



**You have downloaded a document from  
RE-BUS  
repository of the University of Silesia in Katowice**

**Title:** Pochodne tetraaryloporfiryryny o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej : synteza i wybrane właściwości fizykochemiczne

**Author:** Marcin Rojkiewicz

**Citation style:** Rojkiewicz Marcin. (2012). Pochodne tetraaryloporfiryryny o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej : synteza i wybrane właściwości fizykochemiczne. Praca doktorska. Katowice : Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.



UNIwersYTET ŚLĄSKI  
W KATOWICACH



Biblioteka  
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki  
i Szkolnictwa Wyższego

UNIwersytet śląski w KATOWICACH  
Instytut Chemii



MARCIN ROJKIEWICZ

*Pochodne tetraaryloporfiryny o potencjalnym zastosowaniu  
w terapii fotodynamicznej – synteza i wybrane właściwości  
fizykochemiczne*

*Praca doktorska wykonana pod kierunkiem  
Dr hab., prof. UŚ Piotra Kusia*

KATOWICE 2012

*Serdecznie dziękuję Panu Profesorowi Piotrowi Kusiowi  
za wprowadzenie mnie w tematykę chemii porfiryn oraz  
za okazaną pomoc i opiekę w trakcie wykonywania badań.*

*Dziękuję moim Rodzicom, bez których wsparcia  
niniejsza praca nigdy by nie powstała.*

# SPIS TREŚCI

1. Wstęp .....	7
1.1 Część literaturowa - wprowadzenie.....	8
1.2 Fizykochemiczne podstawy terapii fotodynamicznej.....	9
1.3 Mechanizm PDT .....	11
1.4 Fotouczulacze .....	14
1.5 Porfiryny .....	16
1.5.1 Ogólna charakterystyka .....	16
1.5.2 Otrzymywanie porfiryn .....	18
1.5.3 Tetra(hydroksyfenylo)porfiryny .....	23
1.6 Połączenia fotouczulaczy z innymi molekułami i nośnikami .....	26
1.6.1 Oddziaływania niekowalencyjne .....	26
1.6.2 Liposomy .....	28
1.7 Zastosowanie porfiryn i ich pochodnych.....	32
2. Cel pracy .....	35
3. Część eksperymentalna.....	37
3.1 Przeprowadzone syntezy .....	37
3.1.1 Synteza 5,10,15,20-tetra(4-hydroksyfenylo)porfiryny (P1) .....	37
3.1.2 Synteza 5,10,15,20-tetra(3-hydroksyfenylo)porfiryny (P2) .....	37
3.1.3 Synteza 5,10,15,20-tetra(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)porfiryny (P3).....	38
3.1.4 Synteza 5,10,15,20-tetra(4-hydroksy-3,5-dimetoksyfenylo)porfiryny (P4).....	38
3.1.5 Synteza 5-(4-acetamidofenylo)-10,15,20-tri(4-metoksyfenylo)porfiryny (P5).....	38
3.1.6 Synteza 5-(4-aminofenylo)-10,15,20-tri(4-metoksyfenylo)porfiryny (P6) .....	39
3.1.7 Synteza 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksyfenylo)porfiryny (P7)	39
3.1.8 Synteza 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(3-hydroksyfenylo)porfiryny (P8)	40

3.1.9 Synteza 5-(3-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(3-hydroksyfenylo)porfiryny (P9)	41
3.1.10 Synteza palmitynianu 5-(4-oksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksyfenylo)porfiryny(P10)	41
3.1.11 Synteza palmitynianu 5-(3-oksyfenylo)-10,15,20-tri(3-hydroksyfenylo) porfiryny (P11)	42
3.1.12 Synteza 5-(4-heksadecyloksy-3-metoksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)porfiryny (P12)	43
3.1.13 Synteza palmitynianu 5-(4-oksy-3-metoksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksy-3-metoksyfenylo) porfiryny (P13)	43
3.1.14 Synteza 5-(4-heksadecyloksy-3,5-dimetoksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksy-3,5-dimetoksyfenylo)porfiryny (P14)	44
3.1.15 Synteza palmitynianu 5-(4-oksy-3,5-dimetoksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksy-3,5-dimetoksyfenylo) porfiryny (P15)	44
3.1.16 Synteza 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-metoksyfenylo)- porfiryny (P16)	45
3.1.17 Synteza 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-hydroksyfenylo)-porfiryny (P17)	45
3.1.18 Synteza 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-N,N-dimetyloamino-fenylo)porfiryny (P18)	46
3.1.19 Synteza trijodku 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-trimetylo-amoniofenylo)porfiryny (P19)	46
3.1.20 Synteza cynkowej pochodnej 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri- (4-N,N-dimetyloaminofenylo)porfiryny (P20)	46
3.1.21 Synteza cynkowej pochodnej trijodku 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-trimetyloamoniofenylo)porfiryny (P21)	47
3.1.22 Synteza 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(4-N,N-dimetyloaminofenylo)-porfiryny (P22)	47
3.1.23 Synteza trijodku 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(4-trimetylo-amoniofenylo)porfiryny (P23)	48

3.1.24 Synteza 5,10,15,20-tetra(4-aminofenylo)porfiryny (P24) .....	48
3.1.25 Synteza 5,10,15,20-tetra(3-hydroksyfenylo)chloryny (Ch1) .....	49
3.1.26 Synteza 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri-(3-hydroksyfenylo)chloryny (Ch2) .....	49
3.1.27 Synteza 5-(4-hydroksyfenylo)-10,15,20-trifenyloporfiryny (P25) .....	50
3.1.28 Synteza 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-trifenyloporfiryny (P26) .....	51
3.1.29 Synteza 5,15-di(4-hydroksyfenylo)-10,20-di(4-nitrofenylo)porfiryny (P27) .....	51
3.1.30 Synteza chlorku kwasu palmitynowego (Z1) .....	51
3.1.31 Synteza 4-heksadecyloksybenzaldehydu (Z2) .....	52
3.1.32 Synteza 4-aminobenzaldehydu (Z3) .....	52
3.1.33 Synteza N-(4-formylofenylo) amidu kwasu palmitynowego (Z4) .....	52
3.1.34 Synteza 5-(4-nitrofenylo)dipirometanu (Z6) .....	53
3.2 Lipofilowość .....	54
3.3 Spektroskopia UV – VIS .....	54
3.4 Spektroskopia emisyjna – fluorescencja .....	54
3.5 Czasy życia stanów trypletowych .....	55
3.6 Kwantowa wydajność tlenu singletowego .....	55
3.7 Fotostabilność .....	55
4. Omówienie przeprowadzonych badań .....	56
4.1 Omówienie przeprowadzonych syntez .....	56
4.1.1 Synteza porfiryn .....	57
4.1.2 Tetra(hydroksyfenylo)porfiryny .....	58
4.1.3 Chloryny .....	66
4.1.4 Pochodne aminowe porfiryn .....	69
4.1.5 Pozostałe syntety .....	75
4.2 Lipofilowość otrzymanych związków .....	78

4.3 Spektroskopia absorpcyjna .....	86
4.3.1 Widma absorpcyjne pochodnych hydroksylowych porfiryn i chloryn .....	90
4.3.2 Widma absorpcyjne aminowych pochodnych porfiryn.....	94
4.4 Fluorescencja .....	96
4.5 Czasy życia stanów trypletowych.....	105
4.6 Tlen singletowy .....	110
4.7 Fotostabilność.....	118
5. Podsumowanie i wnioski .....	120
6. Dorobek naukowy.....	123
6.1 Spis publikacji .....	123
6.2 Spis prezentacji konferencyjnych .....	123
7. Literatura .....	126

## 1. Wstęp

Związki organiczne, zawierające cztery pierścienie pirolowe połączone ze sobą w aromatyczny układ cykliczny są substancjami chemicznymi o bardzo ważnym znaczeniu biologicznym. Biorą one udział w najważniejszych procesach biochemicznych zachodzących w organizmach żywych, takich jak fotosynteza (chlorofil) czy transport tlenu (hem). Ze względu na rolę jaką spełniają, na przełomie XIX i XX wieku naturalne porfiryny stały się obiektami systematycznych badań mających na celu określenie ich struktur i podstawowych właściwości. Spośród różnych układów tetrapirolowych porfiryny zarówno naturalne jak i syntetyczne do dzisiaj cieszą się zainteresowaniem wielu ośrodków naukowych na świecie. Zainteresowanie tymi związkami naukowców z dziedzin takich jak fizyka, chemia, biologia, medycyna czy nauk badających właściwości oraz potencjalne zastosowanie nowych materiałów w różnych gałęziach przemysłu spowodowane jest możliwością pozyskiwania ich z natury oraz, co wydaje się nawet ważniejsze, na drodze syntezy chemicznej. Wiele syntetycznych porfiryn, ze względu na podobieństwo do naturalnych układów, może służyć do modelowania procesów biochemicznych takich jak fotosynteza czy procesów związanych z transportem tlenu w organizmach. Szczególnie interesująca wydaje się możliwość zastosowania tego typu związków w katalizie chemicznej lub chemii materiałów, gdzie bada się ich potencjalne zastosowanie jako ciekłych kryształów, czujników chemicznych, polimerów przewodzących czy materiałów używanych w optoelektronice.<sup>1-6</sup> Porfiryny i ich pochodne są również wykorzystywane w medycynie. Stosuje się je w diagnostyce medycznej na przykład jako kontrasty w rezonansie magnetycznym, jednak największe zainteresowanie budzi możliwość ich zastosowania jako fotouczulaczy w terapii fotodynamicznej.



## 1.1 Część literaturowa - wprowadzenie

Światło jest wykorzystywane w lecznictwie od tysięcy lat. W starożytności próbowano leczyć przy jego pomocy choroby takie jak bielactwo, łuszczyca, krzywica, a nawet psychozy.<sup>7</sup> Właściwości lecznicze promieniowania zostały również zauważone przez starożytnych Greków, a leczenie światłem określano mianem helioterapii. W 1800 r. Friedrich Wilhelm Herschel jako pierwszy opisał światło podczerwone, a w 1806 r. Johann Wilhelm Ritter dokonał odkrycia światła ultrafioletowego, którego promieniowanie miało właściwości bakteriobójcze. Możliwość eliminacji bakterii odpowiednim promieniowaniem skłoniła Nielsa Ryberga Finsena do podjęcia badań nad opracowaniem metod leczenia za pomocą światła, chorób takich jak ospa wietrzna czy gruźlica skórna. Opracowane przez niego metody przyniosły doskonałe wyniki, co w efekcie doprowadziło do przyznania mu w 1903 r. nagrody Nobla w dziedzinie medycyny.

W XIX wieku wykryto, że oprócz pozytywnych właściwości promieniowania kontakt ze światłem słonecznym negatywnie wpływa na pacjentów zażywających pewne leki. Już na przełomie wieku XIX i XX prowadzono badania mające określić wpływ stężenia fotouczulacza na jego toksyczność. Po przeprowadzeniu testów stwierdzono, że toksyczność badanych związków nie jest związana z ich stężeniem, lecz z ilością użytego światła. W 1902 r. Ledoux-Lebards odkrył, że w reakcjach fototoksycznych niezbędna jest obecność tlenu, a w roku 1903 Tappeiner i Jesionek zastosowali terapię fotodynamiczną w leczeniu nowotworów skóry światłem słonecznym. Rok później dzięki Tappeinerowi termin „terapia fotodynamiczna” zostaje przyjęty do określania terapii zależnej od światła.

W kolejnych latach prowadzono wiele badań nad nowymi fotosensybilizatorami, jak również nad ich akumulacją w tkankach i wreszcie nad praktycznym zastosowaniem metody fotodynamicznej. Diagnostyka i leczenie komórek oraz tkanek zmienionych chorobowo stało się możliwe dopiero w latach siedemdziesiątych XX wieku, kiedy dostępne stały się systemy dostarczania światła do tkanek oparte na technice laserowej i światłowodowej. Dalsze badania i prace poświęcone były głównie wyjaśnieniu mechanizmów kumulacji fotouczulaczy w tkankach i narządach oraz dozowaniu światła w efekcie fotodynamicznego niszczenia komórek.<sup>8</sup>

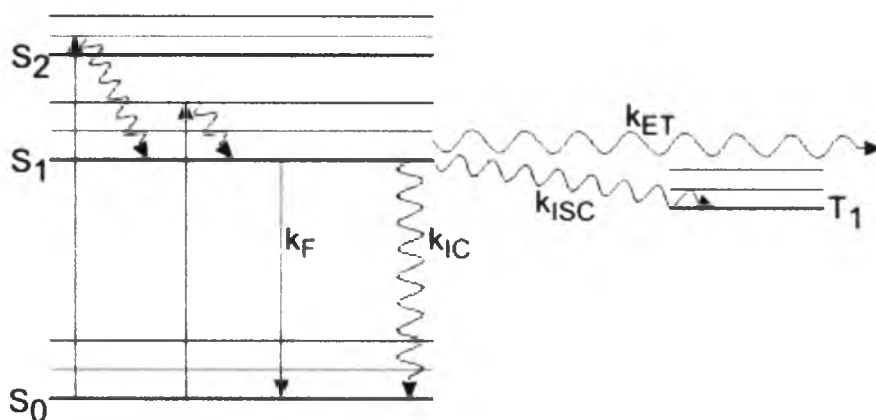
## 1.2 Fizykochemiczne podstawy terapii fotodynamicznej

Terapia fotodynamiczna (PDT) jest jedną z szybko rozwijających się metod leczenia chorób nowotworowych, jak również wielu schorzeń dermatologicznych. Polega ona na oddziaływaniu promieniowania elektromagnetycznego ze skumulowanym w zmienionej chorobowo tkance fotouczulaczem. Molekuła może znajdować się w stanie singletowym lub trypletowym, w zależności od spinowej liczby kwantowej elektronów ( $S=0$  lub  $S=1$ ) jaką posiada. Energia wzbudzenia podstawowego stanu singletowego  $S_0$  do pierwszego stanu wzbudzonego  $S_1$  aromatycznych cząsteczek organicznych mieści się zwykle w przedziale od 1,5 do 3,5 eV, czemu odpowiadają długości fali 300-800 nm.

W przypadku cząsteczek organicznych za widmo absorpcji odpowiedzialne są przejścia elektronów z podstawowego stanu singletowego  $S_0$  do stanów wyższych  $S_n$  oraz ich poziomów oscylacyjnych. Po takim wzbudzeniu następują krótkotrwałe ( $10^{-15}$  s), bezpromieniste przejścia do najniższego wzbudzonego stanu  $S_1$  wolnego od drgań. Następnie w ciągu kilku piko- do nanosekund elektrony przechodzą do stanu podstawowego  $S_0$  i jego poziomów oscylacyjnych. Przejściom tym może towarzyszyć emisja promieniowania – wtedy mamy do czynienia ze zjawiskiem fluorescencji ( $k_F$ ), lub dzięki zjawisku wewnętrznej konwersji ( $k_{IC}$ ) przejścia zachodzą bezpromieniście.

Istotną rolę odgrywają również przejścia ze wzbudzonego stanu singletowego  $S_1$  do wzbudzonego stanu trypletowego  $T_1$ . Są to przejścia wzbronione, zachodzące według mechanizmu interkombinacyjnego ( $k_{ISC}$ ) i związane są ze zmianą spinu elektronów. Podczas powrotu elektronów z  $T_1$  do podstawowego stanu  $S_0$  następuje emisja promieniowania w postaci fosforescencji.

Ważnym elementem jest także bezpromienisty transfer energii ze wzbudzonego stanu singletowego  $S_1$  do sąsiednich cząsteczek ( $k_{ET}$ ), a szczególnie istotne wydaje się przekazywanie energii ze stanu trypletowego  $T_1$  fotosensybilizatora do sąsiednich cząsteczek tlenu.



Rys. 2.2.1 Diagram Jabłońskiego – schemat molekularnych poziomów energetycznych oraz przejść elektronowych. Linie ciągłe – przejścia promieniste, linie falowe – przejścia bezpromieniste

Biorąc pod uwagę wszystkie możliwe przejścia ze wzbudzonego stanu singletowego  $S_1$ , można wyznaczyć czas życia tego stanu ( $\tau$ ) korzystając z zależności:

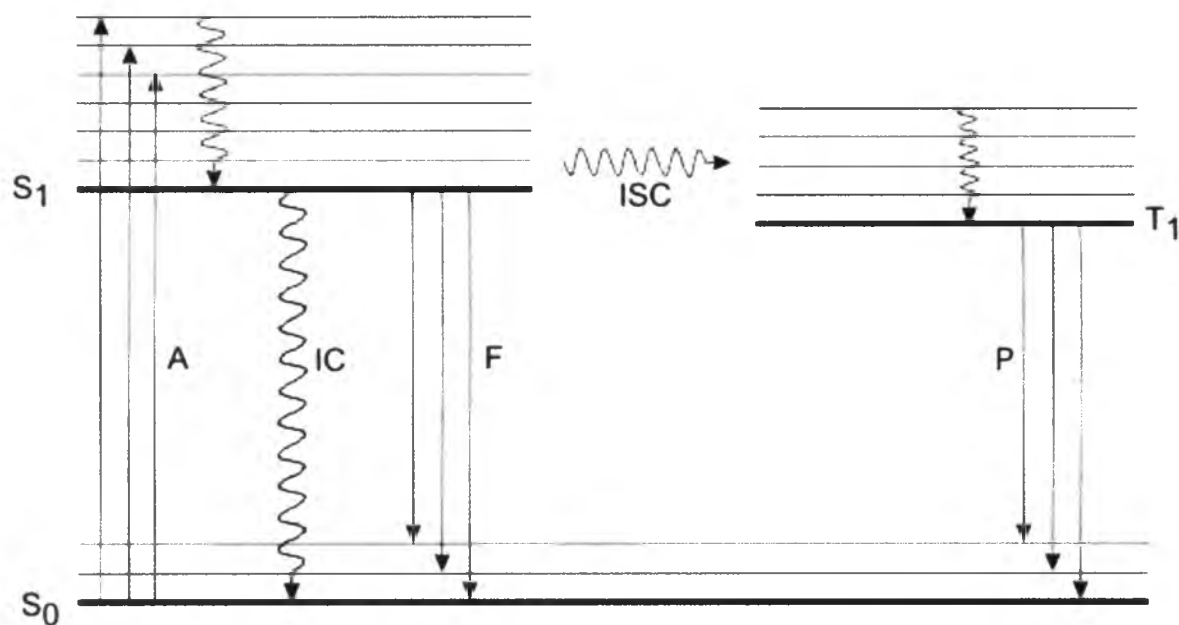
$$\tau = \frac{1}{k_F + k_{IC} + k_{ISC} + k_{ET}}$$

gdzie  $k_F$  to stała szybkości fluorescencji,  $k_{IC}$  stała szybkości konwersji wewnętrznej,  $k_{ISC}$  stała szybkości przejść interkombinacyjnych, a  $k_{ET}$  stała szybkości związana z procesem przekazywania energii sąsiednim molekułom. Dobre fotouczulacze charakteryzuje wysoka trypletowa wydajność kwantowa.

Cząsteczki fotosensybilizatorów dzięki pochłanianiu światła zostają wzbudzone z podstawowego stanu do stanów wyższych, po czym w ciągu kilku nanosekund mogą zostać dezaktywowane. Istnieją trzy drogi dezaktywacji. Po pierwsze zaabsorbowana energia może zostać przekształcona w ciepło w wyniku bezpromienistego przejścia do stanu podstawowego. Zjawisko to jednak nie ma zastosowania w terapii fotodynamicznej (PDT) ani w fotodynamicznej diagnostyce (PDD).

Drugim sposobem jest przejście z poziomu wzbudzonego  $S_1$  do stanu podstawowego  $S_0$  lub jego poziomów oscylacyjnych z wypromieniowaniem energii w formie światła – fluorescencja. Stosunek liczby wyemitowanych fotonów w tym przejściu do liczby fotonów pochłoniętych określany jest jako wydajność kwantowa fluorescencji i zależy od chemicznej budowy fotouczulacza oraz od środowiska czy temperatury w jakiej zachodzi proces.

Trzecią możliwością jest bezpromienne, interkombinacyjne przejście elektronów ze wzbudzonego stanu singletowego  $S_1$  do stanu tripletowego  $T_1$ . Częsteczka będąc w stanie tripletowym może przekazać energię sąsiednim molekułom lub, w wyniku powrotu elektronów do stanu podstawowego  $S_0$ , wyemitować w postaci światła – fosforescencja. Proces przekazu energii ze stanu tripletowego do sąsiednich molekuł jest kluczowy dla uzyskania efektu fotodynamicznego.



Rys. 2.2.2 Procesy wykorzystywane w diagnostyce fluorescencyjnej ( $S_1 \rightarrow S_0$ ) i terapii fotodynamicznej ( $S_1 \rightarrow T_1$ )

### 1.3 Mechanizm PDT

Metoda terapii fotodynamicznej określana często fotochemioterapią, może być skutecznym sposobem w zwalczaniu niektórych odmian nowotworów, ale również chorób oczu, skóry oraz chorób o charakterze bakteryjnym czy wirusowym.<sup>9-10</sup>

Procesem inicjującym mechanizm fotodynamiczny jest absorpcja promieniowania przez cząsteczkę fotouczulacza, co powoduje jej wzbudzenie. Najbardziej efektywne niszczenie komórek nowotworowych występuje, gdy stosowane są związki posiadające stosunkowo długi połowiczny czas życia stanu tripletowego oraz odznaczają się wysoką wydajnością kwantową dla tego stanu.

Fotosensybilizator może oddziaływać z sąsiadującymi molekułami na dwa sposoby. Wyróżniamy zatem dwa typy reakcji fotooksydacyjnych. Pierwszy typ obejmuje transfer elektronu lub atomu wodoru co powoduje wytworzenie rodnikowej formy fotouczulacza lub substratu. Produkty te mogą reagować z tlenem tworząc formy nadtlenkowe, jony ponadtlenkowe i rodniki hydroksylowe, które mogą inicjować wolnorodnikowe reakcje łańcuchowe.

Drugi typ reakcji fotoutleniających obejmuje przeniesienie energii pomiędzy cząsteczką fotouczulacza a cząsteczką tlenu.<sup>11</sup> W wyniku tego procesu fotosensybilizator wraca do stanu podstawowego, tlen zaś zostaje wzbudzony do stanu singletowego (stanem podstawowym dla cząsteczki tlenu jest stan tripletowy). Generowanie tlenu singletowego wydaje się spełniać kluczową rolę w fotodynamicznej cytotoksyczności.<sup>12</sup> Na podstawie wyżej wymienionych reakcji fotooksydacyjnych próbuje się wyjaśniać szereg przemian zachodzących na poziomie komórki czy tkanki.

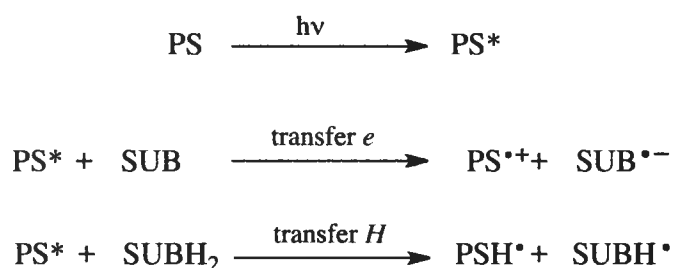
Mechanizm według którego przebiega proces zdeterminowany jest przez ilość tlenu w środowisku reakcji. Gdy stężenie tlenu jest obniżone, reakcje biegą według mechanizmu I, a więc z wytworzeniem form wolnorodnikowych. Rodniki nadtlenkowe  $O_2^-$  oraz jony ponadtlenkowe  $O_2^{2-}$  są bardzo silnymi utleniaczami, więc ich powstanie powoduje niszczenie tkanki nowotworowej. Ponadto rodniki nadtlenkowe mogą reagować z cząsteczkami wody, w wyniku czego tworzą silnie reaktywne i utleniające rodniki hydroksylowe  $OH^\cdot$ .

Jeśli środowisko, w którym biegnie reakcja fotodynamiczna jest bogate w molekularny tlen, wówczas proces zachodzi według mechanizmu II, a więc generowany jest tlen singletowy. Podstawowym stanem dla tlenu molekularnego jest stan tripletowy, posiada on dwa niesparowane elektrony na orbitalach p, a całkowity spin elektronowy  $S=1$ . Stan singletowy charakteryzuje się dwoma sparowanymi elektronami i wypadkowym spinem elektronowym  $S=0$ . Tlen singletowy jest formą metastabilną i odznacza się wysoką reaktywnością, co prowadzi do niszczenia komórek w wyniku podobnych mechanizmów oksydacyjnych jak w przypadku mechanizmu I.

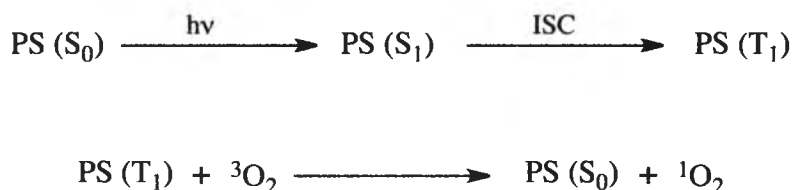
Jak już wspomniano kluczową rolę w reakcjach fotodynamicznych odgrywa mechanizm generowania singletowego tlenu. Dzieje się tak ze względu na stosunkowo długi czas życia tlenu singletowego w porównaniu z czasem życia rodników. Wynosić on może od  $6 \cdot 10^{-7} - 10^{-4}$  s w zależności w jakim środowisku się znajduje. W środowisku komórki tlen singletowy żyje około 0,5  $\mu s$  co pozwala mu dyfundować na odległości rzędu 0,1 – 0,2  $\mu m$ .<sup>13</sup>

Śmierć komórki może nastąpić na dwa sposoby. Jednym z nich jest nekroza, która jest niekontrolowaną śmiercią komórki najczęściej na skutek działania zewnętrznych czynników. Śmierć nekrotyczna może powodować stany zapalne oraz uszkodzenia innych komórek. Drugą możliwością jest apoptoza – programowana śmierć komórki, która jest normalnym procesem fizjologicznym zachodzącym w organizmie w celu usunięcia komórek zużytych lub uszkodzonych.<sup>14</sup>

### MECHANIZM I

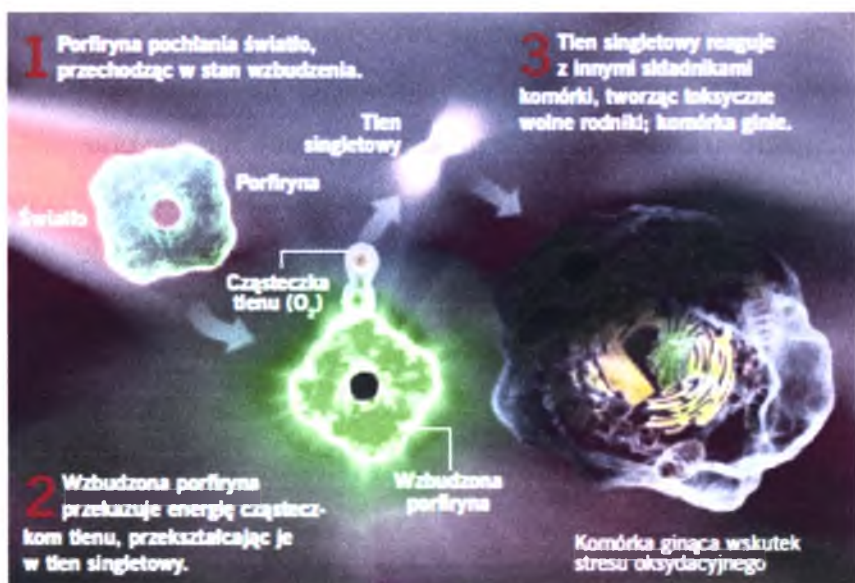


### MECHANIZM II



Rys. 1.3.1 Tworzenie rodników w mechanizmie I, tworzenie tlenu singletowego w mechanizmie II  
(PS\* – fotosensybilizator w stanie wzbudzonym)

Oddziaływanie form wolnorodnikowych lub tlenu singletowego na struktury subkomórkowe doprowadza w efekcie do śmierci komórki, głównie na drodze nekrozy.



Rys. 1.3.2 Mechanizm terapii fotodynamicznej<sup>15</sup>

## 1.4 Fotouczulacze

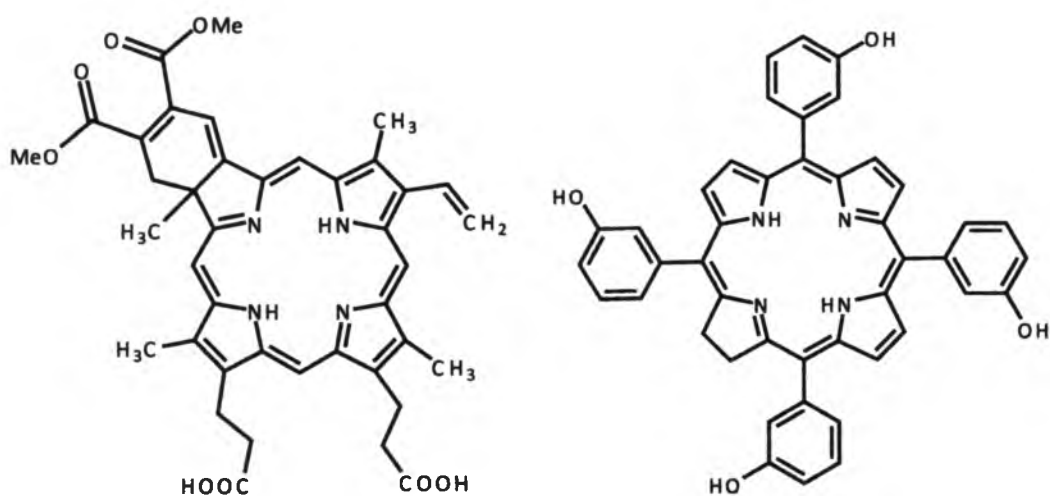
Efekt fotodynamiczny wiąże się zasadniczo z dwoma etapami. Pierwszy etap polega na dostarczeniu fotosensybilizatora do zmienionego chorobowo miejsca, drugi na jego aktywowaniu światłem o odpowiedniej długości fali. Związek chemiczny, który może być stosowany w terapii musi spełniać szereg warunków. Dobry fotouczulacz powinien charakteryzować się:

- stałym, dobrze zdefiniowanym składem chemicznym,
- selektywnością gromadzenia się w chorej tkance,
- maksimum absorpcji w tzw. „oknie terapeutycznym”,
- wysokim molowym współczynnikiem absorpcji,
- wysoką wydajnością tlenu singletowego,
- brakiem aktywności w ciemności,
- jak najmniejszym źródłem efektów ubocznych.

Ważną cechą potencjalnego fotouczulacza jest też łatwość jego syntezy oraz dostępność potrzebnych do tego celu substratów.<sup>16</sup>

Z dotychczas stosowanych klinicznie fotosensybilizatorów najbardziej popularnym jest Photofrin, który jako pierwszy tego typu preparat został dopuszczony do użytku. Photofrin jest preparatem składającym się z mieszaniny pochodnych hematoporfiryny, którego skład nie jest ściśle określony, co niewątpliwie należy do jego wad.

Photofrin składa się z mieszaniny dimerów, trimerów oraz wyższych oligomerów hematoporfiryny, przy czym zawartość odpowiednich form nie jest dokładnie określona, a ich wzajemny stosunek może pozostawać różny w kolejnych partiach leku. Przysparza to wielu kłopotów przy próbie określenia ogólnego wpływu tego preparatu na organizm, nie wiadomo bowiem jaka forma leku jest formą aktywną. Kolejnymi fotouczulaczami dopuszczonymi do terapii klinicznej są tzw. fotouczulacze drugiej generacji, czyli związki otrzymane na drodze syntetycznej, o ściśle określonej budowie. Wymienić tu można np. Foscan lub Visudyne, które są odpowiednio tetra(m-hydroksyfenylo)chloryną oraz pochodną benzoporfiryny.<sup>17-19</sup>



Rys. 1.4.1 Struktura Visudyne (po lewej) i Foscanu (po prawej)

Fotosensybilizatory wydają się interesującymi związkami nie tylko ze względu na możliwość zastosowania ich w terapii antynowotworowej. Mogą one być również użyteczne w leczeniu innych schorzeń (zwyrodnienie plamki żółtej - AMD, choroby skórne). Wszelkie zastosowania medyczne wiążą się jednak z problemem dostarczenia tych związków do chorobowo zmienionych miejsc w organizmie.

Wyważone właściwości hydrofilowo-hydrofobowe są jednym z głównych czynników decydujących o przydatności związku jako fotouczulacza. Sam pierścień porfirynowy jest hydrofobowy, ale wprowadzając do cząsteczki odpowiednie ugrupowania można zmieniać jego charakter, ponadto szczególnie interesująca wydaje się możliwość umieszczania fotouczulaczy w układach micellarnych lub zbliżonych swą budową do naturalnych błon komórkowych (np. liposomy), co może się okazać wygodną metodą



dostarczania związku do chorobowo zmienionego miejsca.<sup>20-22</sup> W literaturze pojawiają się również doniesienia o badaniach nad zamykaniem fotouczulaczy w nanocząsteczkach.<sup>23</sup> Układy typu fotosensybilizator-nośnik określane są mianem fotouczulaczy trzeciej generacji.

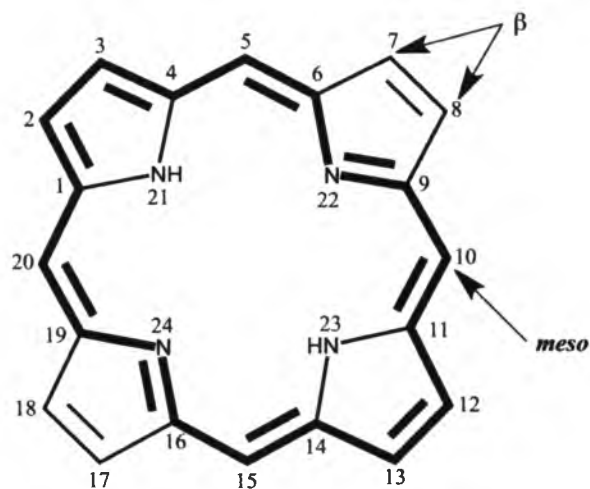
## 1.5 Porfiryny

### 1.5.1 Ogólna charakterystyka

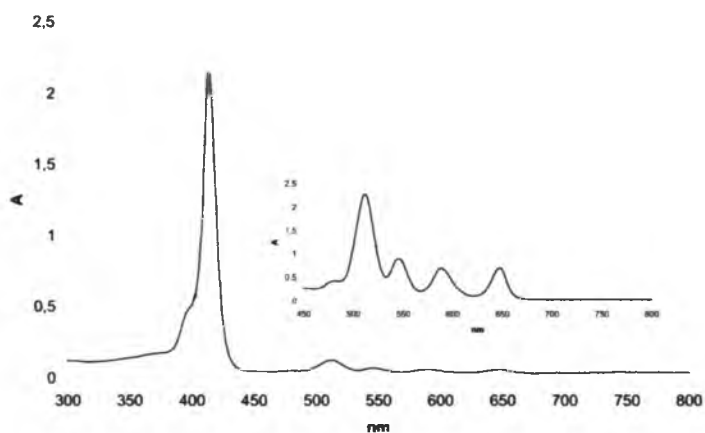
Porfiryny są związkami chemicznymi o fundamentalnym znaczeniu dla życia ponieważ szkielet tetrapiolowy występuje w związkach takich jak hem i chlorofil. Porfiryny i ich pochodne są odpowiedzialne za przebieg podstawowych procesów biochemicznych takich jak fotosynteza czy transport tlenu. Nazwa “porfiryne” pochodzi od greckiego słowa “porphura”, które oznaczało kolor fioletowy, co było powiązane z charakterystyczną barwą tych związków.

Cząsteczka porfiryny (lub porfiny – jak określa się niepodstawioną porfiryne) zbudowana jest z czterech pierścieni pirolowych połączonych mostkami metinowymi. Cały układ ma charakter aromatyczny i to właśnie pierścień porfirynowy odpowiada za interesujące właściwości fotochemiczne tych związków. Cząsteczka porfiny jest płaska i ze względu na stabilizację przez rezonans sprzężonego układu  $\pi$ -elektronowego trwała. Wprowadzenie do niej podstawników może jednak spowodować odkształcenia i zaburzyć planarność pierścienia. Porfiryny posiadają silne właściwości kompleksujące, mogą ulegać reakcjom substytucji wolnorodnikowej oraz aromatycznej substytucji elektrofilowej zachodzącym w pozycjach *meso* lub  $\beta$ .<sup>24</sup>

Związki te posiadają bardzo charakterystyczne widmo elektronowe, które składa się z intensywnego pasma Soreta występującego przy długości fali około 420 nm oraz czterech pasm Q obserwowanych w zakresie od 450 do 700 nm. Chromoforowe właściwości sprzężonego układu wiązań nienasyconych odpowiedzialne są za silną absorpcję porfiryń w zakresie UV-VIS czego konsekwencją jest ich intensywne zabarwienie.



Rys. 1.5.1 Struktura porfiry



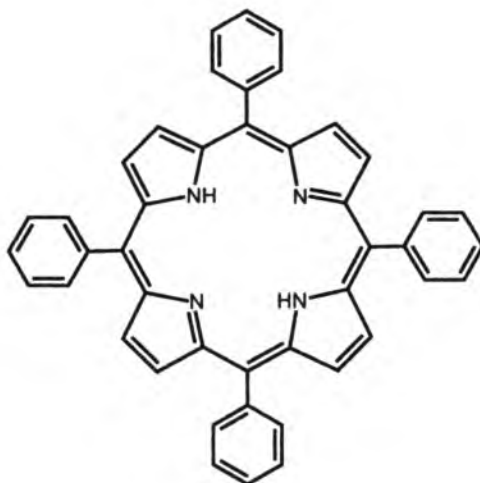
Rys. 1.5.2 Widmo absorpcyjne porfiryn

Dzięki możliwości otrzymywania syntetycznych porfiryn oraz pozyskiwania ich z natury, a następnie modyfikowania, związki te są przedmiotem intensywnych badań (naukowców z dziedzin takich jak fizyka, chemia, biologia czy medycyna) mających na celu znalezienie możliwości ich wykorzystania w różnych gałęziach przemysłu i medycyny.

### 1.5.2 Otrzymywanie porfiryn

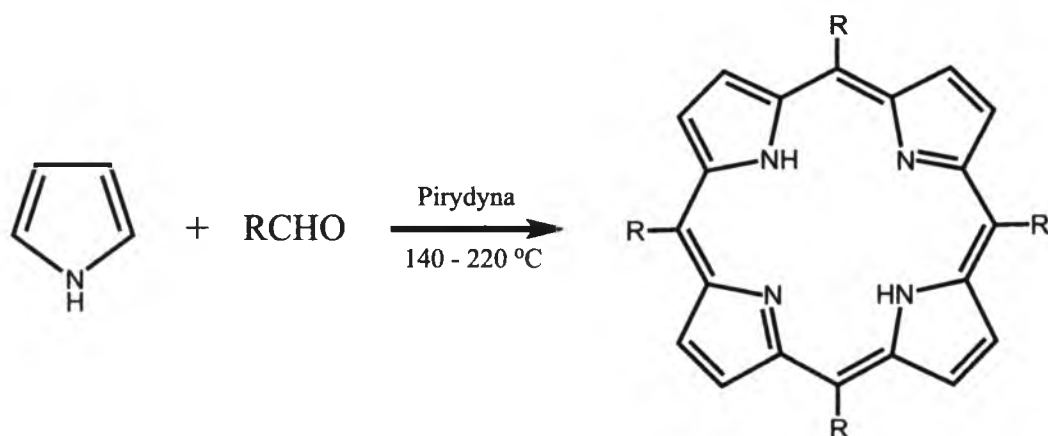
Zastosowanie na szeroką skalę porfiryn i ich pochodnych w przemyśle czy medycynie jest wciąż ograniczane przez problemy z ich otrzymywaniem, a konkretnie ze skomplikowanym procesem wyodrębniania tych związków z mieszanin poreakcyjnych oraz z niską wydajnością tworzenia się produktu. Dlatego właśnie zagadnienia związane z chemią i syntezą porfiryn są wciąż aktualne.<sup>25</sup>

Jedną z najlepiej poznanych grup porfiryn są związki posiadające podstawniki arylowe w pozycjach *meso*. Stosunkowo łatwa synteza niektórych z tych związków, która polega na kondensacji odpowiednich aldehydów i pirolu sprawia, że wiele właściwości porfiryn syntetycznych jak również naturalnych próbuje się badać na *meso*-aryloporfirynach, w szczególności tetra(fenyl)porfirynie i jej pochodnych.



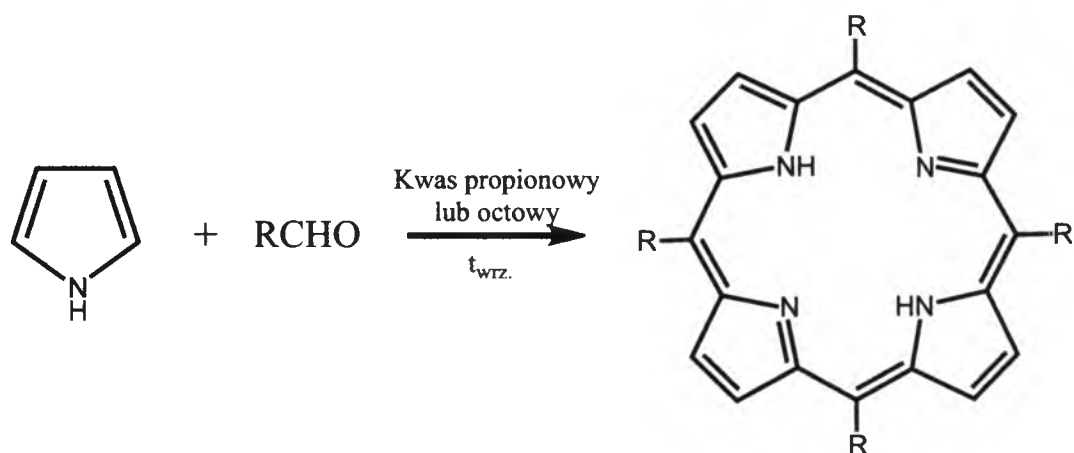
Rys. 1.5.3 Struktura tetraaryloporfiryny

Pierwsze doniesienia na temat otrzymywania *meso*-podstawionych porfiryn, otrzymanych w wyniku reakcji aldehydu i pirolu pojawiły się w pracy Rothemunda z 1935 roku.<sup>26</sup> Produkty reakcji otrzymano z bardzo niskimi wydajnościami, dlatego dalsze studia nad reakcją otrzymywania porfiryn miały na celu podniesienia jej wydajności. Rothemund wyższe wydajności osiągnął umieszczając aldehyd i pirol w zatopionej, szklanej ampule, w obecności pirydyny, całość ogrzewając w temperaturze 140 – 240 °C (schemat 1.5.1).<sup>27-28</sup>



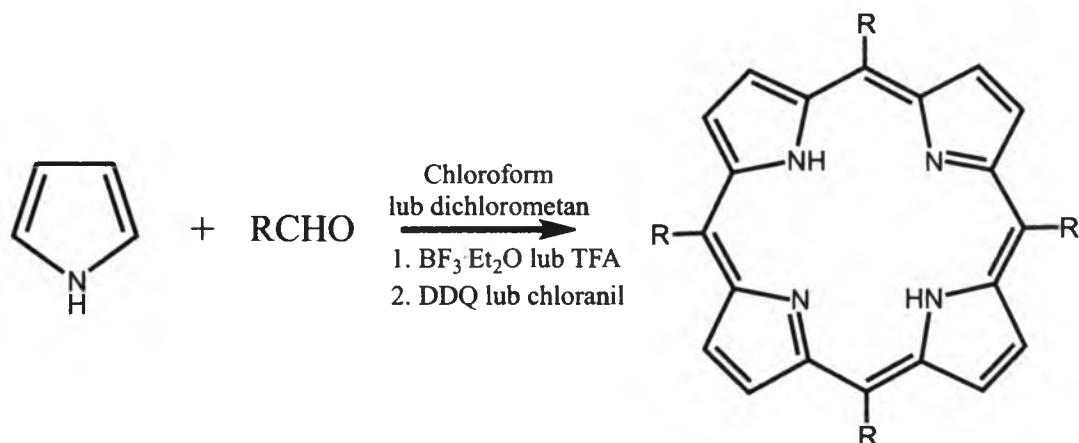
Schemat 1.5.1 Synteza Rothemunda

W kolejnych latach w literaturze ukazywały się prace poświęcone dalszym badaniom otrzymywania porfiryn metodą Rothemunda. Stwierdzono, że wydajność reakcji wzrasta po dodaniu do mieszaniny reakcyjnej octanu cynku, w wyniku czego produktem jest zmetalizowana porfiryra. Badano również możliwość zastosowania rozpuszczalników o wyższej niż pirydyna temperaturze wrzenia.<sup>29-30</sup> Próbowano otrzymywać porfiryny umieszczając substraty na nośnikach zeolitowych czy krzemionkowych, które następnie naświetlano promieniowaniem mikrofalowym, badano wpływ różnych rozpuszczalników bądź ich brak, stężenia substratów, obecności katalizatorów, utleniaczy oraz innych substancji na wydajność reakcji.<sup>31-34</sup> Pewnym przełomem w syntezie porfiryn okazała się metoda nazywana dziś metodą Adlera-Longo (schemat 1.5.2), a opracowana przez wspomnianych autorów i ich współpracowników pod koniec lat sześćdziesiątych XX wieku. Polegała ona na ogrzewaniu aldehydu i pirolu w temperaturze wrzenia kwasowego rozpuszczalnika, przy dostępie atmosferycznego tlenu. Najpowszechniej stosowanym rozpuszczalnikiem w tej metodzie jest kwas propionowy.<sup>35-37</sup>



Schemat 1.5.2 Synteza Adlera - Longo

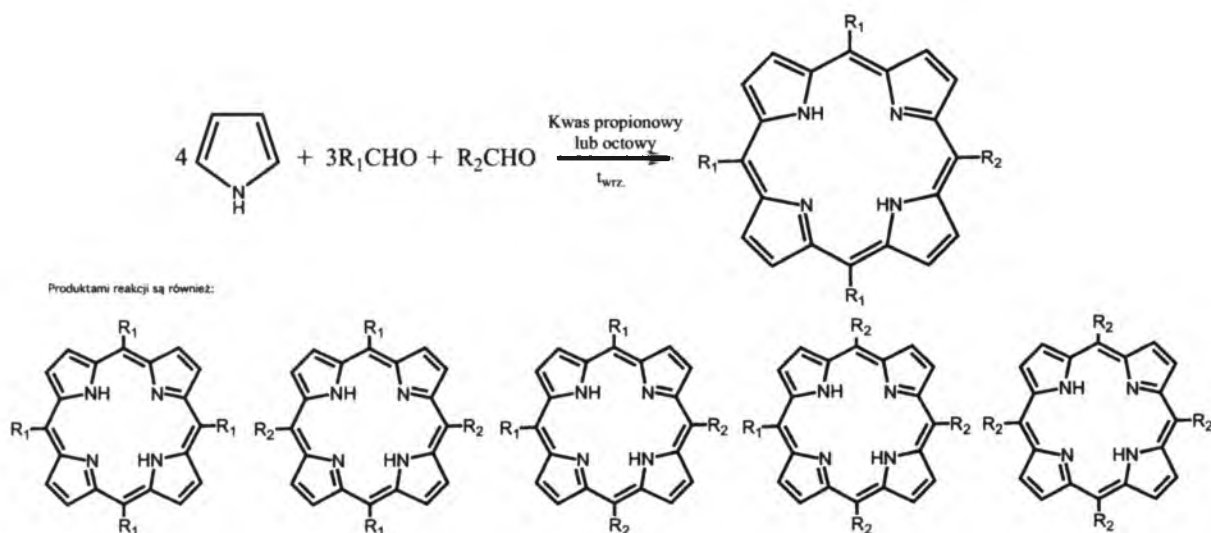
Metoda Adlera-Longo stała się wygodną metodą w przypadku otrzymywania porfiryń ze stabilnych aldehydów. Jednak ze względu na dość drastyczne warunki reakcji metoda ta zawodziła jeśli aldehyd posiadał podstawniki wrażliwe na wysoką temperaturę czy niskie pH. Pod koniec lat osiemdziesiątych Lindsey wraz ze współpracownikami opracował nową metodę otrzymywania porfiryń. Reakcja ta przebiega w dwóch etapach prezentowanych na schemacie 1.5.3. W pierwszym etapie aldehyd, pirol oraz katalizator rozpuszcza się w chloroformie lub dichlorometanie i całość miesza w atmosferze gazu obojętnego, w temperaturze pokojowej. W wyniku reakcji tworzy się porfiryńogen, który od razu, w drugim etapie, po dodaniu utleniacza zostaje utleniony do porfiryny. Najczęściej stosowanymi katalizatorami w tej metodzie są eterat fluorku boru oraz kwas trifluorooctowy, natomiast jako utleniacze najczęściej stosuje się DDQ (2,3-dichloro-5,6-dicyjano-1,4-benzochinon) lub p-chloranil (2,3,5,6-tetrachloro-1,4-benzochinon).<sup>38-41</sup>



Schemat 1.5.3 Synteza Lindseya

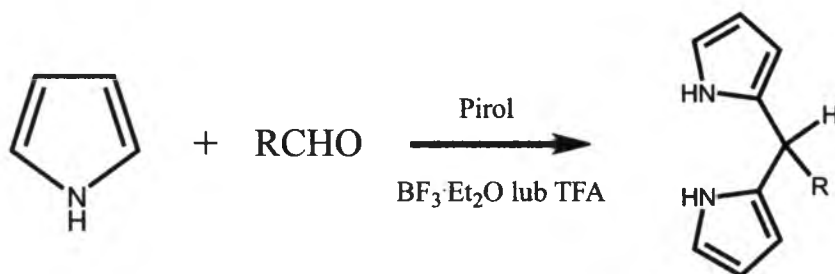
Metoda Lindseya ze względu na łagodne warunki w jakich jest prowadzona stwarza możliwości otrzymywania porfiryn z aldehydów, z których synteza w warunkach wysokiej temperatury czy kwasowości jest niemożliwa.

Metoda Adlera-Longo oraz metoda Lindseya są dziś najczęściej stosowanymi drogami otrzymywania porfiryn symetrycznych. Niemniej za ich pomocą można również otrzymywać związki niesymetryczne. W tym celu do syntezy należy użyć co najmniej dwóch różnych aldehydów. W wyniku takiej reakcji powstaje mieszanina produktów, z których produkt pożądany izolowany jest najczęściej za pomocą chromatografii kolumnowej (schemat 1.5.4). Ze względu na tworzenie się produktów ubocznych wydajność reakcji otrzymywania porfiryn niesymetrycznych jest znacznie niższa niż symetrycznych.



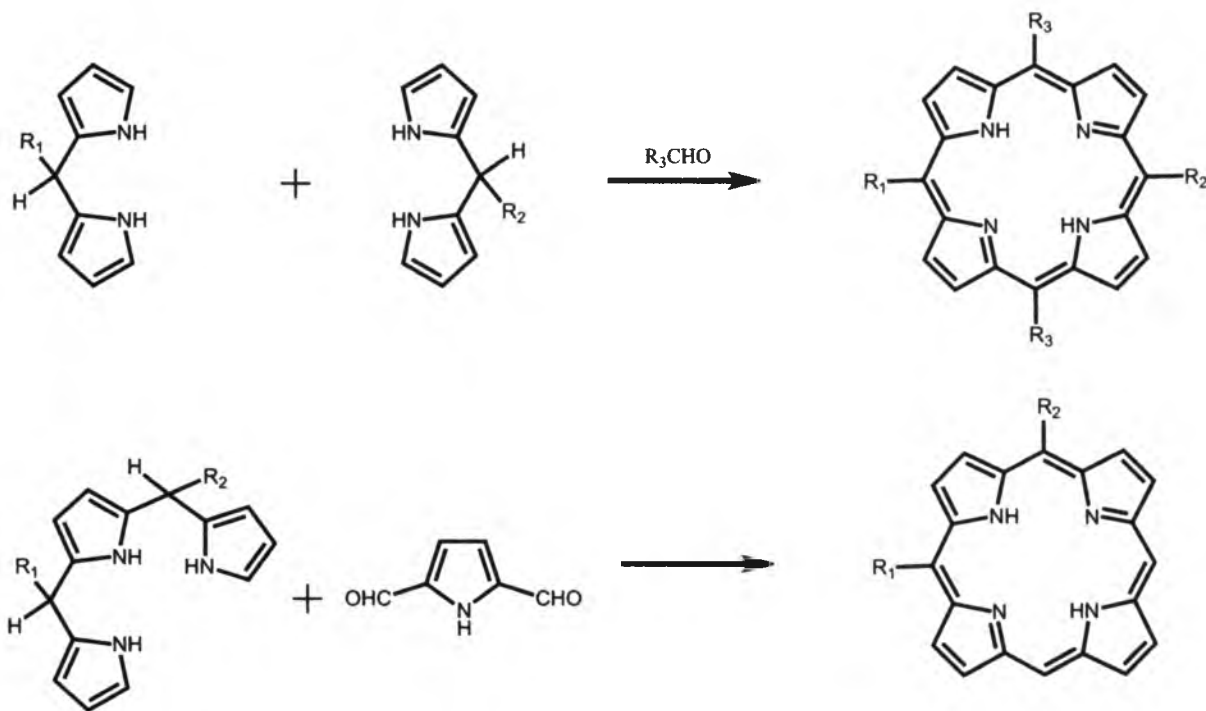
Schemat 1.5.4 Synteza mieszanych porfiryn

Inną metodą otrzymywania niesymetrycznych porfiryn jest synteza z zastosowaniem dipirometanów. Dipirometany powstają w wyniku reakcji aldehydu z dużym molowym nadmiarem pirolu, w obecności kwasów Lewisa (schemat 1.5.5).<sup>42-46</sup>



Schemat 1.5.5 Synteza dipirometanów

W wyniku kondensacji dipirometanu z aldehydami powstają *meso*-podstawione porfiryny. W zależności od liczby rodzajów zastosowanych aldehydów możemy otrzymać odpowiednie, niesymetryczne, ale też symetryczne porfiryny (schemat 1.5.6). Ze względu na wrażliwość dipirometanów na wysoką temperaturę oraz środowisko kwasowe synteza porfiryn z ich użyciem prowadzona jest w warunkach łagodnych, takich jak w metodzie Lindseya.



Schemat 1.5.6 Synteza porfiryn z użyciem di- i tripirometanów

Poza porfirynami *meso*-podstawionymi otrzymywać można również związki, które są zmodyfikowane w pozycjach β. Najczęściej wykorzystuje się do tego celu wcześniej odpowiednio podstawione pochodne pirolu. Wiele porfiryn i ich pochodnych jest pozyskiwanych również z natury (np. hematoporfiryna otrzymywana jest z krwi), a następnie modyfikowanych w zależności od potrzeb.

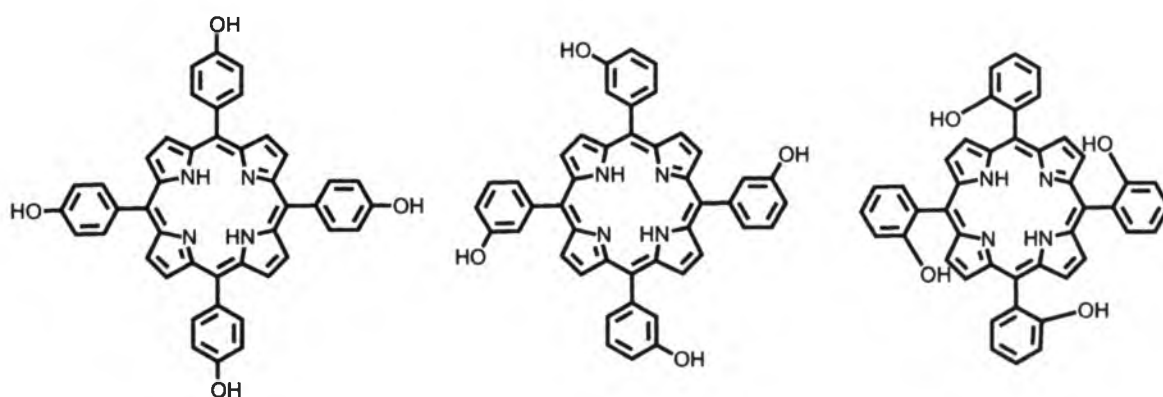
### 1.5.3 Tetra(hydroksyfenylo)porfiryny

Przełom XIX i XX wieku to czas, w którym w nauce dokonuje się przełomowych odkryć. W tym czasie coraz szerszym zainteresowaniem cieszy się możliwość zastosowania w medycynie związków chemicznych, które mogą oddziaływać ze światłem. Przez kolejne dekady jednak w leczeniu wykorzystującym terapię fotodynamiczną nie osiągnano szczególnych postępów.<sup>47</sup> Dopiero na przełomie lat pięćdziesiątych i sześćdziesiątych XX wieku pojawiły się pierwsze kliniczne sukcesy z wykorzystaniem porfirynewych fotouczulaczy.<sup>48</sup> Badania profesora Dougherty'ego pozwoliły rozpowszechnić metodę i zająć się nią na szeroką skalę.<sup>49-50</sup> Pierwszymi związkami porfirynewymi, które potencjalnie mogły być fotouczulaczami stosowanymi klinicznie były pochodne hematoporfiryny, tzw. fotouczulacze pierwszej generacji. Na początku lat osiemdziesiątych otrzymano preparat składający się z mieszaniny dimerów i wyższych oligomerów hematoporfiryny, który opatentowano pod handlową nazwą Photofrin i dopuszczono do użytku w wielu krajach.<sup>51</sup> Pomimo iż Photofrin jest lekiem, który stosowany jest w terapii fotodynamicznej do dziś, nie jest on pozbawiony pewnych wad. Główną wadą Photofrinu jest fakt, że jest on mieszaniną związków chemicznych, a konsekwencją tego, po zaaplikowaniu go choremu, jest obecność w tkankach również nieaktywnych form fotouczulacza. Powtarzalność otrzymywania kolejnych partii leku nie jest do końca kontrolowana.<sup>52-53</sup> Pochodne hematoporfiryny posiadają również stosunkowo niską wartość molowego współczynnika absorpcji w pierwszym paśmie Q, a więc w zakresie długości fali około 600 – 650 nm oraz cechuje je dość silne uczulanie skóry, co wiąże się z wieloma tygodniami unikania przez pacjenta silnego światła po zastosowaniu terapii fotodynamicznej z użyciem tego typu fotouczulaczy.<sup>54</sup> W kolejnych latach próbowano określić dokładnie aktywną formę odpowiedzialną za efekt fotodynamiczny oraz udoskonalić technologię produkcji, by uzyskać preparat wzbogacony o tę formę. Zasugerowano, że aktywną formą jest dimer hematoporfiryny występujący w postaci pochodnej eterowej bądź estrowej. Sugestie te nigdy nie zostały jednoznacznie potwierdzone, jak również nie udało się opracować metody otrzymywania czystego chemicznie dimeru hematoporfiryny.

W związku z wadami jakie miały fotouczulacze będące pochodnymi hematoporfiryny, pracowano nad otrzymaniem nowych związków, które spełniałyby warunki stawiane fotouczulaczom. Fotouczulacze drugiej generacji, jak zaczęto nazywać nową grupę związków, które miały potencjalnie znaleźć zastosowanie w terapii



fotodynamicznej, cechowała czystość chemiczna oraz intensywniejsze pasma absorpcji w obszarze światła czerwonego. Poza porfirynami uwagę skupiono również na ftalocyjaninach oraz chlorynach.<sup>55-56</sup> Wśród porfiryn szczególne zainteresowanie wzbudziła *meso*-tetra(hidroksyfenylo)porfiryra oraz jej pochodne. Pierwsze prace dotyczące otrzymywania *meso*-tetra(hidroksyfenylo)porfiryn (izomerów *orta*, *meta*, *para*) pochodzą z lat sześćdziesiątych i siedemdziesiątych XX stulecia<sup>57-59</sup> jednak dopiero w latach osiemdziesiątych zauważono możliwość zastosowania ich jako fotouczulaczy.<sup>54</sup> Kolejne prace związane z tymi związkami koncentrowały się na badaniach ich właściwości fizykochemicznych jak również biologicznych.



Rys. 1.5.4 Struktury izomerów tetra(hidroksyfenylo)porfiryny

Jednym z pierwszych bardziej obszernych opracowań dotyczących syntezy jak również podstawowych właściwości różnych izomerów tetra(hidroksyfenylo)porfiryny, jest praca Berenbaum'a et al.<sup>54</sup> Tetra(hidroksyfenylo)porfiryne można otrzymać bezpośrednio metodą Adlera-Longo wychodząc z odpowiedniego aldehydu hydroksybenzoesowego i pirolu. Otrzymane z innych aldehydów porfiryne są produktami pośrednimi na drodze syntezy odpowiedniej pochodnej hydroksylowej. Najczęściej stosowanymi aldehydami, innymi niż hydroksybenzaldehyd, są związki z zabezpieczoną grupą hydroksylową w postaci estru lub eteru. Powszechnie do tego celu używane są acetoksybenzaldehyd czy metoksybenzaldehyd. Porfiryne z zabezpieczoną grupą hydroksylową bardzo często znacznie łatwiej się wyodrębnia z mieszaniny poreakcyjnej oraz oczyszcza, natomiast późniejsze usunięcie grupy zabezpieczającej nie stanowi żadnego problemu.

I tak na przykład w celu usunięcia grupy estrowej można zastosować hydrolizę, grupę eterową natomiast można usunąć stosując jedną z wielu metod demetylacji.<sup>60-61</sup>

Pierwsze wyniki badań nad pochodnymi izomerów tetra(hidroksyfenylo)porfiryny okazały się dość obiecujące. Wszystkie spośród otrzymanych izomerów wykazywały co najmniej kilkukrotnie większe właściwości fotouczulające niż hematoporfiryna czy Photofrin. Najslabiej wśród omawianej grupy izomerów tetra(hidroksyfenylo)porfiryny „uczulał” izomer para, bo tylko 4 – 6-krotnie silniej niż wspomniana wcześniej HpD czy Photofrin, natomiast najsilniejsze właściwości fotouczulające posiadał izomer meta, bo aż 25 – 30-krotnie silniejsze. Ważnym parametrem związku fotouczulającego jest jego zdolność uczulania skóry po jego wprowadzeniu do organizmu. W przypadku gdy zdolność związku do fotouczulania skóry jest duża, pacjent po zakończonej terapii musi zostać odizolowany od światła na odpowiedni czas. Ważne jest, by fotouczulacz po zakończonym leczeniu jak najszybciej został wydalony z organizmu, nie narażając pacjenta na dodatkowe szkody czy dyskomfort. Dlatego spośród izomerów tetra(hidroksyfenylo)porfiryny izomer orto, mimo że posiada zdolność fotouczulającą guza kilkunastokrotnie wyższą od hematoporfiryny nie jest odpowiednim związkiem do stosowania w terapii, ponieważ ma bardzo intensywne właściwości fotouczulające skórę. W tetra(o-hidroksyfenylo)porfirynie występuje również zjawisko atropoizomerii, co szczególnie w przypadku jej pochodnych utrudnia otrzymanie czystych izomerów.

Wstępne badania nad tetra(hidroksyfenylo)porfirydami były na tyle obiecujące, że wzbudziły zainteresowanie innych grup badawczych. Pod koniec lat osiemdziesiątych XX wieku Bonnett et al.<sup>62</sup> opublikowali pracę na temat syntezy i właściwości zredukowanych form tetra(hidroksyfenylo)porfiryny jako potencjalnych fotouczulaczy. Redukcję odpowiednich porfiryd przeprowadzono według metody Whitlocka et al.<sup>63</sup> używając p-toluenosulfonylohydrazidu. Otrzymane związki charakteryzowały się, w porównaniu do wyjściowych porfiryd, kilkukrotnie lub nawet kilkudziesięciokrotnie wyższym molowym współczynnikiem absorpcji w czerwonym zakresie światła widzialnego, a więc w zakresie, który był szczególnie istotny w terapii fotodynamicznej. Taki wzrost wartości molowego współczynnika absorpcji chloryny sprawiał, że do otrzymania podobnego efektu terapeutycznego można użyć znacznie mniej tego związku niż w przypadku zastosowania porfiryny.

Spośród otrzymanych tetra(hidroksyfenylo)porfiryd i ich pochodnych postanowiono wybrać kilka związków, których właściwości predestynowały

je do zastosowania w terapii fotodynamicznej. Wybrane fotouczulacze porównano z Photofrinem, analizując wady i zalety stosowania Photofrinu oraz wybranych związków. W zestawieniu nie brano pod uwagę tetra(o-hydroksyfenylo)porfiryne oraz jej zredukowanej formy ze względów wspomnianych już wcześniej, a więc głównie silnych właściwości uczulających skórę. Również bakteriochloryny okazały się niezbyt dobrymi kandydatami na fotouczulacze ze względu na relatywną niestabilność. Ponieważ trudno jest otrzymać związek całkowicie pozbawiony wad, cechą dobrego fotouczulacza powinien być dość wysoki poziom zalet jakie posiada związek w procesie fotodynamicznym, przy jednoczesnym zachowaniu akceptowalnego poziomu „kosztów” na jakie narażony będzie pacjent.<sup>64</sup> Okazało się, że tetra(*meta*-hydroksyfenylo)chloryna (m-THPC) posiada wiele cech, które czynią z niej dobry fotouczulacz. Charakteryzuje się ona pewną selektywnością do tkanki nowotworowej, posiada wysoki molowy współczynnik absorpcji przy długości fali 652 nm, jej droga syntezy jest dość szybka i prosta, posiada niską toksyczność w ciemności oraz jest na tyle dobrze rozpuszczalna w polarnych rozpuszczalnikach, że może być podawana do organizmu bez dodatkowych nośników.<sup>65</sup> Kolejne lata badań nad m-THPC, głównie badań biologicznych i klinicznych, doprowadziły do wprowadzenia w 2001 roku na rynek preparatu pod handlową nazwą Foscan. Foscan jest roztworem tetra(*meta*-hydroksyfenylo)chloryny w mieszaninie alkoholu etylowego i glikolu propylenowego.<sup>66</sup>

## **1.6 Połączenia fotouczulaczy z innymi molekułami i nośnikami**

### **1.6.1 Oddziaływania niekowalencyjne**

Terapia fotodynamiczna jako alternatywa dla tradycyjnej chemioterapii czy bardziej inwazyjnej chirurgii rzuciła zupełnie nowe światło na walkę z chorobami nowotworowymi. W ostatnich dekadach badania nad fotouczulaczami syntetycznie czystymi, o zwiększonej absorpcji w zakresie światła czerwonego miały wpływ na powstanie i rozwój nowej grupy związków zwanych fotouczulaczami drugiej generacji. Mimo otrzymywania nowych związków o dobrych parametrach fizykochemicznych ciągle pozostawał problem ich wprowadzenia do organizmu. Porfiryne i ich pochodne to najczęściej związki słabo rozpuszczalne w wodzie, za to doskonale rozpuszczające się w rozpuszczalnikach organicznych, które zupełnie nie nadają się do badań biologicznych. Aby rozwiązać problem rozpuszczalności związku i jego wprowadzenia

do organizmu podjęto próby nad otrzymywaniem leków zamkniętych w odpowiednich nośnikach. Nośniki takie miały obojętny dla organizmu charakter. Ich rola polegała tylko i wyłącznie na transporcie leku do celu. Pierwszymi tego typu nośnikami były liposomy i nanocząsteczki. W kolejnych latach, poza samym zamykaniem leku, do nośnika próbowano wprowadzać związki, które miały zwiększać selektywność takiego układu do tkanki nowotworowej. Innym jeszcze pomysłem na wprowadzenie leku do organizmu, a zarazem zwiększenie jego selektywności jest łączenie związku z odpowiednimi biomolekułami, które wykazują powinowactwo do chorych tkanek. Tego typu zabiegi doprowadziły do powstania zupełnie nowego typu fotouczulaczy – tzw. trzeciej generacji, czyli układu fotouczulacz-nośnik.

Porfiryny i ich pochodne zazwyczaj są związkami hydrofobowymi, czasem amfifilowymi, pomiędzy których cząsteczkami mogą występować różnego typu oddziaływania. Oddziaływania te wpływają na agregację cząsteczek związku w roztworze co wpływa na jego właściwości fizykochemiczne. W przypadku fotouczulaczy znajomość niekowalencyjnych oddziaływań występujących pomiędzy ich cząsteczkami, jak również składnikami otoczenia, w którym się znajdują wydaje się kluczowa dla zrozumienia mechanizmów działania leku. Niekowalencyjne oddziaływania mogą wpływać na transport związku w organizmie, na jego właściwości spektroskopowe – co w przypadku fotouczulaczy jest niezwykle istotne, a nawet na mechanizmy rozpoznania molekularnego.

Siła napędowa tworzenia się trwałych agregatów jest wypadkową jednoczesnego działania kilku oddziaływań słabych, których charakter może być hydrofobowy lub elektronowy. Do oddziaływań elektronowych zaliczamy oddziaływania kulombowskie,  $\pi$ - $\pi$ , dyspersyjne oraz wiązania wodorowe.<sup>67</sup> Wśród oddziaływań  $\pi$  wyróżniamy klasyczne oddziaływania  $\pi$ - $\pi$  oraz kation- $\pi$  i CH- $\pi$ . Oddziaływania  $\pi$ - $\pi$  mogą mieć charakter przyciągający lub odpychający w zależności od sposobu oddziaływania chmur elektronowych. Są to oddziaływania dalekiego zasięgu. Krótkodystansowe oddziaływania kation- $\pi$  są stosunkowo silne. Natomiast oddziaływania CH- $\pi$  są słabe, ale ich wpływ uwidocznia się kiedy występuje duża ilość grup CH w cząsteczce. Pozostałe oddziaływania niekowalencyjne mają charakter elektrostatyczny, tak w przypadku oddziaływań kulombowskich, jak również wiązań wodorowych. W porfirynach i ich pochodnych oddziaływania niekowalencyjne zależą od grup funkcyjnych przyłączonych do związku oraz od obecności metalu. Zatem ich siła zależy bardzo często od polarności, charakteru, ale także ilości grup funkcyjnych. Przykładem niekowalencyjnych asocjatów wśród porfiryn są tworzące się ich kompleksy

z cholesterolem, a dokładniej z LDL-em, czyli lipoproteiną niskiej gęstości. Jest to o tyle ważne, że zauważono zwiększoną liczbę receptorów LDL w komórkach nowotworowych, a więc kompleks taki może wykazywać większe powinnowactwo do tego typu komórek.<sup>68</sup>

Czasem oddziaływania niekowalencyjne okazują się zbyt słabe. W żywym organizmie zasocjowane cząsteczki fotouczulacza oddziałują z obecnymi w otoczeniu substancjami, z którymi mogą tworzyć trwalsze kompleksy, tym samym tracąc pożądane z terapeutycznego punktu widzenia właściwości. Również pH wpływa na trwałość tego typu asocjatów.

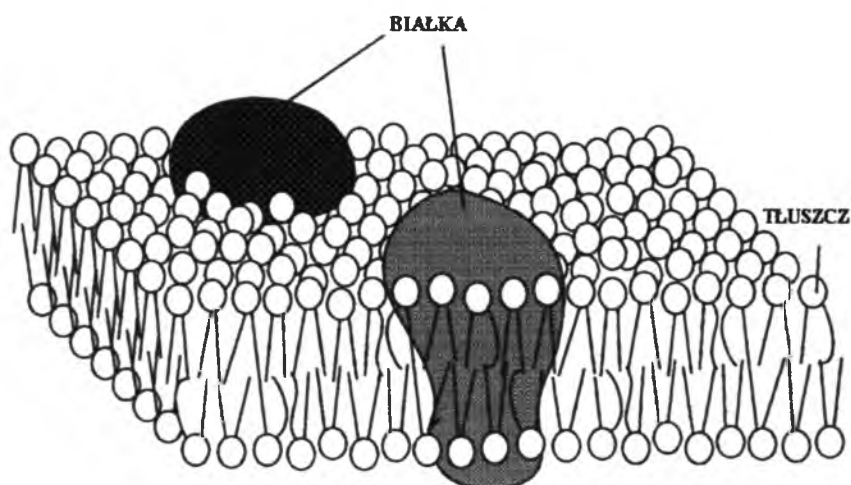
Cukry jako jedne z najważniejszych z biologicznego punktu widzenia związków organicznych okazały się dość interesującą grupą, którą można łączyć z fotouczulaczami. Ze względu na obecność wielu grup hydroksylowych znacznie polepszają rozpuszczalność fotouczulacza w wodzie oraz zwiększają jego wnikanie do komórki. Inną grupą związków, z którymi można łączyć fotouczulacze są peptydy i białka. Z jednej strony są one atrakcyjne ponieważ w swojej budowie posiadają wiele grup funkcyjnych przez które może nastąpić przyłączenie oraz mogą być tak dobierane, by pasowały do receptorów umieszczonych na komórkach, do których fotouczulacz ma dotrzeć. Z drugiej strony mnogość grup funkcyjnych może powodować pewne uniedogodnienia związane z samą syntezą, ponieważ jeśli reaktywność grup w danych warunkach jest podobna, trudno otrzymywać produkty zachowując pożądaną chemoselektywność. Kolejnym układem, który wydaje się chyba najbardziej obiecującym spośród wymienionych jest łączenie fotouczulacza z odpowiednimi przeciwciałami. Ze względu na obecność na komórkach nowotworowych specyficznych antygenów, fotouczulacz z przeciwciałem, które łączyłoby się z danym antygenem byłby znacznie bardziej selektywny.

### **1.6.2 Liposomy**

W ciągu ostatnich dziesięcioleci liposomy i podobne im struktury były badane pod kątem zastosowania ich jako nośników leków, jak również jako modele naturalnych błon występujących w organizmie.<sup>69</sup> W kontekście terapii fotodynamicznej właśnie te dwa aspekty wydały się interesujące ponieważ dość dużym problemem jest dostarczenie fotouczulacza w miejsce działania oraz badanie mechanizmów jego wnikania w komórkę.

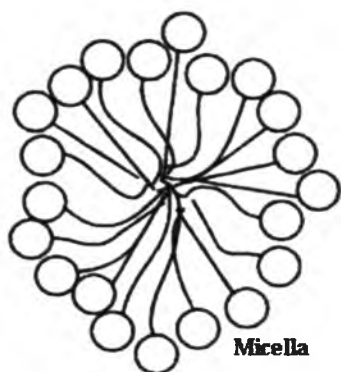
Błona komórkowa (Rys. 1.6.1) jest spontanicznie organizującą się strukturą złożoną głównie z tłuszczów i białek. Tłuszcze zaangażowane w tworzenie błony

komórkowej tworzą tzw. podwójną warstwę lipidową, która jest swego rodzaju rozpuszczalnikiem dla występujących w błonie białek. Błona komórkowa jest jedną z podstawowych struktur biologicznych i spełnia wiele funkcji niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Siłami odpowiedzialnymi za tworzenie się podwójnej warstwy lipidowej są oddziaływania hydrofobowe.



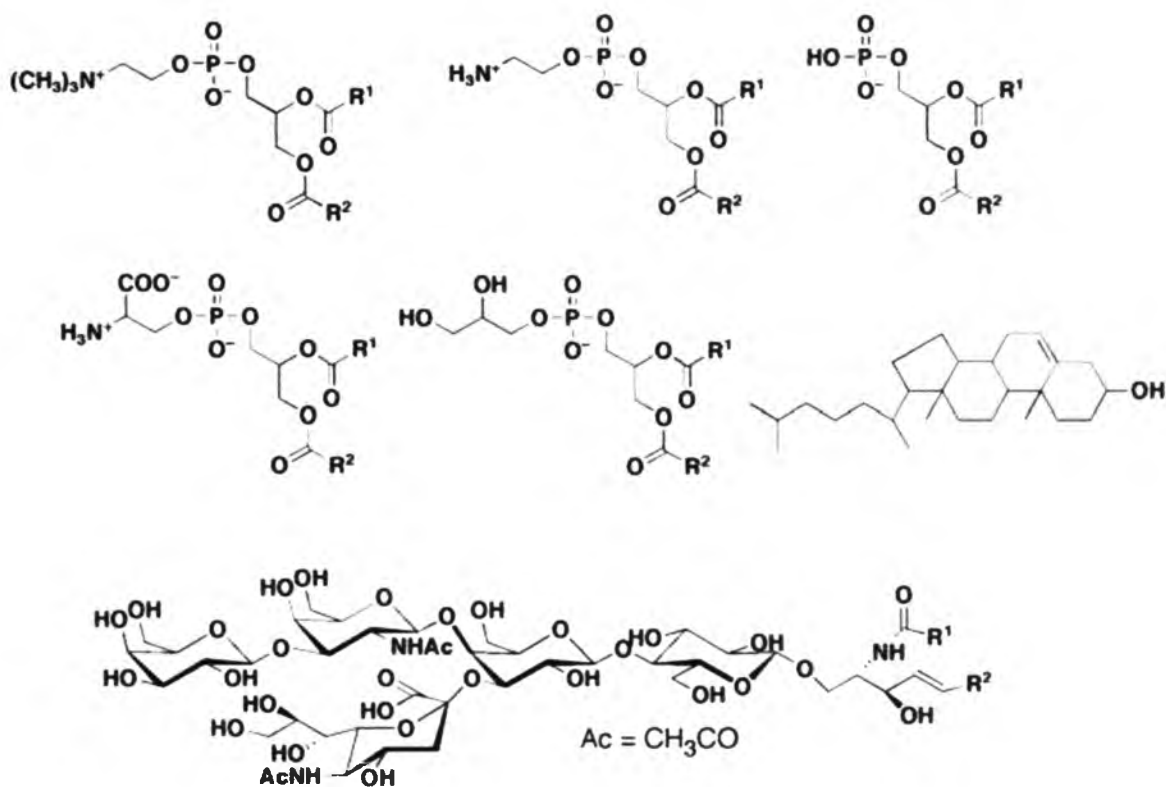
Rys. 1.6.1 Błona komórkowa – schemat budowy

Cząsteczki tłuszczu zbudowane są z „hydrofilowej głowy” i „hydrofobowego ogona”. „Głowa” ma powinowactwo do wody, natomiast „ogon” do niepolarnych rozpuszczalników organicznych, dzięki czemu cała cząsteczka jest amfifilowa. Taka budowa sprawia, że amfifilowe cząsteczki mogą ulegać samoorganizacji w zależności od środowiska w jakim się znajdują. Najprostszymi „tworami” będącymi skutkiem samoorganizacji tłuszczów są micelle (Rys. 1.6.2). W roztworze wodnym część hydrofilowa związku skierowana jest na zewnątrz micelli, natomiast część hydrofobowa – do wewnątrz. W rozpuszczalnikach organicznych może występować tzw. micella odwrotna.



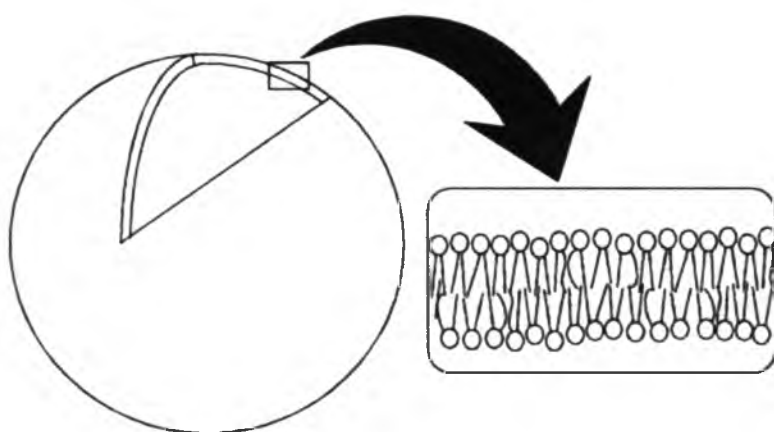
Rys. 1.6.2 Micelle

Micelle ze względu na swoją dynamikę i dość niestabilny charakter niezbyt nadają się jako nośniki leków czy struktury modelowe dla błon komórkowych. Osiągnięcie stabilnych struktur zdolnych do transportu innych cząsteczek uzależnione jest od składników mających te struktury tworzyć. Na poniższym rysunku (Rys. 1.6.3) przedstawiono kilka przykładowych struktur związków, które są odpowiednie do tworzenia podwójnej warstwy tłuszczowej.



Rys. 1.6.3 Przykładowe struktury tworzące podwójną warstwę lipidową

Jak widać na załączonym rysunku w zależności od ugrupowań obecnych w cząsteczce możemy mówić o fosfolipidach, gdy w cząsteczce obecna jest grupa fosforanowa czy glikolipidach, gdy mamy w niej fragment cukrowy. Niezwykle ważnym składnikiem naturalnych błon jest cholesterol. Główną cechą różniącą tłuszcze od związków tworzące micelle jest stosunek wielkości hydrofilowej „głowy“ do hydrofobowego „ogona“. Tłuszcze posiadają znacznie większy „ogon“ w stosunku do „głowy“ dlatego w wodzie hydrofobowe części organizując się, tworzą struktury dwuwarstwowe, które zamykając się tworzą strukturę trójwymiarową, w której wnętrzu może znajdować się woda. Struktura taka to właśnie liposom (Rys. 1.6.4).



Rys. 1.6.4 Liposom

Liposomy zasadniczo można podzielić na kilka grup ze względu na rozmiar oraz ilość podwójnych warstw, z których się składają. Mamy więc małe i duże liposomy jednowarstwowe (odpowiednio SUV i LUV) oraz liposomy wielowarstwowe (MLV).

Dużą zaletą liposomów jest możliwość zastosowania ich jako nośników leków. Dzięki swojej budowie lek może zostać wbudowany w podwójną warstwę lipidową lub zamknięty w wodnej, wewnętrznej części liposomu. Dzięki temu liposomy są odpowiednie do transportu leków hydrofilowych, jak również hydrofobowych. Ponadto w ścianę liposomu mogą zostać wbudowane przeciwciała lub inne substancje zwiększające ich powinowactwo do chorych tkanek.<sup>70</sup>

Pomimo iż terapia fotodynamiczna jest stosowana od kilkunastu lat wciąż dość niejasne są mechanizmy nią sterujące, szczególnie mechanizmy wnikania leku do komórki. Okazuje się, że liposomy doskonale nadają się do badania różnych aspektów tego typu



mechanizmów ze względu na swoje podobieństwo do komórek,<sup>71-72</sup> ale co chyba ważniejsze – mogą być wygodnymi nośnikami dla fotouczulacza. Wiele fotouczulaczy jest nierozpuszczalnych w roztworach wodnych, a ich roztwory w rozpuszczalnikach organicznych w większości przypadków nie mogą być wprowadzone do organizmu. Zastosowanie liposomów jako nośników nie tylko umożliwia wprowadzenie leku do organizmu, ale również poprawia jego profil farmakokinetyczny.<sup>73-76</sup>

## 1.7 Zastosowanie porfiryny i ich pochodnych

Porfiryny i ich pochodne poza terapią fotodynamiczną znajdują zastosowanie jeszcze w wielu innych dziedzinach. Są lub mogą być wykorzystywane przy otrzymywaniu ciekłych kryształów<sup>77-80</sup>, różnego rodzaju czujników chemicznych<sup>81-83</sup>, w katalizie<sup>84-88</sup>, jako modele receptorów<sup>89-90</sup> czy kontrasty w diagnostyce medycznej.<sup>91-92</sup>

Istotna wydaje się możliwość otrzymywania wielocząsteczkowych układów porfirynowych lub porfiryroidowych. Wynika to z obserwacji poczynionych w naturze, gdzie ugrupowania takie spełniają ważne funkcje. Jednym z najbardziej znanych układów, odpowiadającym za transport tlenu u ludzi i zwierząt jest hemoglobina, której grupą prostetyczną jest hem. Dzięki efektom allosterycznym i zmianom konformacyjnym w hemoglobinie cząsteczka tlenu może być wiązana lub uwalniana w odpowiednim momencie. Badania nad hemoglobiną jak również nad innymi układami znalezionymi w naturze skłoniły naukowców do prób otrzymywania syntetycznych, samoorganizujących się zespołów, które mogłyby służyć do modelowania procesów zachodzących w naturze. Badane są również układy, w których siłą napędową samoorganizacji są wiązania wodorowe, oddziaływania metal-ligand, oddziaływania  $\pi$ - $\pi$  czy wreszcie ich kombinacja. Dzięki swoim specyficznym właściwościom fizykochemicznym tego typu układy mogą znaleźć zastosowanie w badaniach nad procesami transferu elektronu czy transferu energii z fotowzbudzonych stanów, w katalizie lub produkcji ciekłych kryształów.

Ciekły kryształ zgodnie z definicją IUPAC jest mezomorficznym stanem skupienia o orientacyjnym uporządkowaniu dalekiego zasięgu i częściowym uporządkowaniu pozycyjnym lub całkowitym jego brakiem. Ciekłe kryształy klasyfikuje się do dwóch grup – „prętopodobnych” oraz „dyskopodobnych” ciekłych kryształów. Większość ciekłych kryształów tworzonych przez porfiryny i ich pochodne zalicza się do grupy „dyskopodobnych”. Ciekłe kryształy bazujące na porfiryroidach znajdują zastosowanie

w urządzeniach elektroluminescencyjnych, bateriach słonecznych, elastycznych tranzystorach TFT czy ogólnie w ciekłokrystalicznych półprzewodnikach.

Niezwykle ważnym zastosowaniem porfiryn, a szczególnie ich kompleksów z metalami, jest kataliza chemiczna. Okazuje się, że kompleksy glinu, cynku, kobaltu czy rodu porfiryn są doskonałymi inicjatorami reakcji polimeryzacji anionowej i wolnorodnikowej.<sup>93-94</sup> Polimery otrzymywane w obecności porfirynewych inicjatorów mają wąski rozkład mas cząsteczkowych, a umiejętność kontrolowania tego parametru jest niezwykle istotna przy otrzymywaniu polimerów. W katalizie często stosuje się kompleksy tetrafenyloporfiryny, jednak zauważono, że obecność dodatkowych grup w pierścieniu fenylowym może wpływać na zdolności katalityczne związku. Chodzi tu zarówno o grupy zwiększające lub zmniejszające gęstość elektronową w pierścieniu, jak i te, które mają charakter zawady sterycznej.<sup>95-96</sup>

Chemiczne czujniki są z definicji „urządzeniami“ zamieniającymi chemiczną informację na analitycznie użyteczny sygnał. Współczesne czujniki chemiczne głównie dedykowane są różnego rodzaju czujnikom elektronicznym. Chemiczne czujniki są więc swego rodzaju opornikami, kondensatorami, półprzewodnikami, których właściwości elektryczne zależą od chemicznego składu środowiska, w którym się znajdują. Ważne jest by zmiany chemiczne w czujniku znajdowały odzwierciedlenie w zmianach właściwości elektrycznych układu. Dlatego właśnie czujnik chemiczny jest zbudowany z dwóch komponentów – receptora, który oddziałuje ze środowiskiem oraz przetwornika, który zmiany w strukturze czy właściwościach fizykochemicznych receptora potrafi przetworzyć na sygnał elektryczny. Porfiryny i ich pochodne w czujnikach chemicznych spełniają rolę receptora, natomiast spektrum zmian jakie mogą zachodzić w ich właściwościach sprawia, że można je łączyć z wieloma typami przetworników.<sup>97-98</sup>

Ostatnie lata to dynamiczny rozwój nauk związanych z szeroko pojętą nanotechnologią. Nanotechnologia zajmuje się światem i prawami nim rządzącymi na poziomie mniejszym niż mikrometr, najczęściej w granicach od 1 do 100 nm. Okazuje się bowiem, że mikroświatem rządzą często zupełnie inne prawa fizyczne, niż te które obowiązują w skali makro, a które opisuje mechanika kwantowa. Właściwości nanomateriałów są ściśle związane z wielkością ich cząsteczek. Również porfiryny i ich pochodne znajdują zastosowanie w nanotechnologii.<sup>99</sup> Dzięki ich połączeniom z fullerenami,<sup>100</sup> nanorurkami węglowymi,<sup>101</sup> grafenem<sup>102</sup> czy nanozłotem<sup>103</sup> uzyskuje się materiały o zupełnie nowych właściwościach. Także same porfiryny mogą tworzyć nanocząsteczki. Dzięki oddziaływaniom  $\pi$ - $\pi$  agregują one i mogą tworzyć cząstki

o różnych kształtach i wielkości 10 – 100 nm. Właściwości takich agregatów są zupełnie inne niż związku w roztworze lub w postaci stałej.

Wspomniane powyżej możliwości potencjalnego zastosowania porfiryn i ich pochodnych stanowią tylko niewielki fragment informacji jakie można znaleźć w literaturze. Porfiryny i ich pochodne są związkami o tak różnorodnych właściwościach, że mogą być przedmiotem badań szeroko pojętej chemii i fizyki materiałów, nanotechnologii, biologii czy medycyny.<sup>104</sup>

## 2. Cel pracy

Porfiryny i ich pochodne są związkami, które mogą znaleźć zastosowanie w wielu dziedzinach nauki. Szczególne zainteresowanie budzi możliwość wykorzystania tych związków w medycynie. Terapia fotodynamiczna jest jedną z szybko rozwijających się w ostatnich latach, nieinwazyjnych metod zwalczania chorób nowotworowych. Polega ona na oddziaływaniu skumulowanego w chorej tkance fotouczulacza z promieniowaniem elektromagnetycznym, w wyniku czego najczęściej powstają reaktywne formy tlenu, odpowiedzialne za stres oksydacyjny, a w konsekwencji śmierć komórki. Najczęściej stosowanymi fotouczulającymi związkami są porfiryny i ich pochodne. Związki, które potencjalnie mogłyby znaleźć zastosowanie jako fotouczulacze muszą spełniać szereg kryteriów, wśród których istotna jest kwestia dostarczenia fotouczulacza do organizmu. Jednym ze sposobów, który ułatwia wprowadzenie związku do organizmu jest łączenie go z różnymi nośnikami. Rolę nośnika mogą spełniać na przykład liposomy.

Celem pracy było otrzymanie szeregu nowych pochodnych tetraaryloporfiryny, które potencjalnie mogłyby zostać wykorzystane jako fotouczulacze oraz wyznaczenie ich podstawowych parametrów fizykochemicznych istotnych z punktu widzenia PDT. Pierwszy etap prac polegał na syntezie pochodnych tetra(hydroksyfenylo)porfiryny z jednym wyraźnie hydrofobowym fragmentem. Celem tego zabiegu było wprowadzenie do cząsteczki fotouczulacza struktury, która ułatwiałaby jego połączenie z liposomem. Na fragment ten wybrano szesnastowęglowy łańcuch alkilowy. Wybór tetra(hydroksyfenylo)porfiryny jako struktury wiodącej oraz szesnastowęglowego łańcucha ma swoje uzasadnienie. Tetra(hydroksyfenylo)porfiryne wybrano ponieważ jej zredukowana do chloryny forma jest z powodzeniem stosowana w praktyce klinicznej pod handlową nazwą Foscan. Z kolei jednym z najczęściej stosowanych w otrzymywaniu liposomów fosfolipidów jest dipalmitylofosfatydylocholina. W jej strukturze obecne są dwa szesnastowęglowe fragmenty pochodzące od kwasu palmitynowego. Obecność w strukturze liposomu i fotouczulacza podobnych fragmentów miałaby ułatwiać wbudowanie związku w liposom. Hydrofobowy łańcuch mógłby również pomagać wnikać niezwiązanemu z żadnym nośnikiem fotouczulaczowi bezpośrednio w błonę komórkową. Aby wprowadzić niezwiązany związek bezpośrednio do organizmu konieczna jest poprawa jego rozpuszczalności w rozpuszczalnikach polarnych, a szczególnie w wodzie. Kolejnym celem pracy było otrzymanie aminowych pochodnych tetrafenyloporfiryny

z przyłączonym długim łańcuchem alkilowym, a następnie czwartorzędowanie grup aminowych.

Kolejne etapy pracy polegały na charakterystyce fizykochemicznej otrzymanych związków. Celem tych badań było wyznaczenie podstawowych parametrów istotnych z punktu widzenia terapii fotodynamicznej, takich jak molowe współczynniki absorpcji, kwantowe wydajności fluorescencji oraz generowania tlenu singletowego, czasy życia stanów trypletowych czy fotostabilność otrzymanych związków.

Ostatecznie efektem przeprowadzonych badań powinno być otrzymanie serii nowych związków, pochodnych tetraaryloporfiry, w pełni scharakteryzowanych fizykochemicznie pod kątem ewentualnych zastosowań w terapii fotodynamicznej.

### 3. Część eksperymentalna

Widma masowe wykonano aparatem DUO FINNINGAN THERMOQUEST lub VARIAN MS-500. Widma magnetycznego rezonansu jądrowego wykonano aparatem UltraShield 400 MHz firmy BRUKER.

#### 3.1 Przeprowadzone syntezy

##### 3.1.1 Synteza 5,10,15,20-tetra(4-hydroksyfenylo)porfiryny (P1)

8,8 g (0,072 mola) 4-hydroksybenzaldehydu dodano do 300 ml kwasu propionowego. Całość ogrzewano do momentu całkowitego rozpuszczenia aldehydu, następnie dodano 5 ml (0,072 mola) pirolu. Mieszaninę utrzymywano w temperaturze łagodnego wrzenia przez 1,5 godziny. Po tym czasie oddestylowano około 200 ml kwasu propionowego, mieszaninę ochłodzono do temperatury otoczenia i neutralizowano nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu. Wydzielony osad odsączono i przemywano chloroformem do uzyskania przezroczystego przesączu. Produkt wydzielano za pomocą chromatografii kolumnowej (żel krzemionkowy / dichlorometan – metanol (30:1 v/v). Otrzymano 1,34 g produktu (W= 11 %).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 8.93 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.87 (s; 4  $\text{H}_\text{OH}$ ); 8.08, 8.06 (d; 8  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.31, 7.29 (d; 8  $\text{H}_\text{Ar}$ ); -2.68 (s;  $\text{H}_\text{NH}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 679,3 (100%)

##### 3.1.2 Synteza 5,10,15,20-tetra(3-hydroksyfenylo)porfiryny (P2)

8,8 g (0,072 mola) 3-hydroksybenzaldehydu dodano do 300 ml kwasu propionowego. Całość ogrzewano do momentu całkowitego rozpuszczenia aldehydu, następnie dodano 5 ml (0,072 mola) pirolu. Mieszaninę utrzymywano w temperaturze łagodnego wrzenia przez 1,5 godziny. Po tym czasie oddestylowano około 200 ml kwasu propionowego, mieszaninę ochłodzono do temperatury otoczenia i neutralizowano nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu. Wydzielony osad odsączono i przemywano chloroformem do uzyskania przezroczystego przesączu. Produkt wydzielano za pomocą chromatografii kolumnowej (żel krzemionkowy / dichlorometan – metanol (30:1 v/v). Otrzymano 1,11 g produktu (W= 9 %).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 10.00 (s; 4  $\text{H}_\text{OH}$ ); 8.88 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 7.66 – 7.56 (m; 12  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.27 – 7.21 (m; 4  $\text{H}_\text{Ar}$ ); -3.02 (s;  $\text{H}_\text{NH}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 680,1 (100%)

### 3.1.3 Synteza 5,10,15,20-tetra(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)porfiryny (P3)

11,3 g (0,072 mola) waniliny (4-hydroksy-3-metoksybenzaldehydu) dodano do 300 ml kwasu propionowego. Całość ogrzewano do momentu całkowitego rozpuszczenia aldehydu, następnie dodano 5 ml (0,072 mola) pirolu. Mieszaninę utrzymywano w stanie łagodnego wrzenia przez 1,5 godziny. Po tym czasie oddestylowano około 200 ml kwasu propionowego, mieszaninę ochłodzono do temperatury otoczenia i umieszczono w lodówce na 24 godziny. Następnie odsączono wydzielony osad, który przemywano zimnym chloroformem do uzyskania przezroczystego przesączu. Produkt oczyszczano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)). Otrzymano 1,73 g związku (W= 12%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta$  (ppm): 9.53 (s; 4  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 8.91 (s; 8  $\text{H}_{\text{B}}$ ); 7.77 (s; 4  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.59, 7.58 (d; 4  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.22, 7.21 (d; 4  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 3.86 (s; 12  $\text{H}_{\text{OMe}}$ ); -2.88 (s; 2  $\text{H}_{\text{NH}}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 798,6 (100%)

### 3.1.4 Synteza 5,10,15,20-tetra(4-hydroksy-3,5-dimetoksyfenylo)porfiryny (P4)

13,1 g (0,072 mola) 4-hydroksy-3,5-dimetoksybenzaldehydu dodano do 300 ml kwasu propionowego. Całość ogrzewano do momentu całkowitego rozpuszczenia aldehydu, następnie dodano 5 ml (0,072 mola) pirolu. Mieszaninę utrzymywano w stanie łagodnego wrzenia przez 1,5 godziny. Po tym czasie mieszaninę ochłodzono do temperatury otoczenia i umieszczono w lodówce na 24 godziny. Następnie odsączono wydzielony osad, który przemywano metanolem do uzyskania przezroczystego przesączu. Otrzymano 3,72 g związku (W= 22%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.97 (s; 8  $\text{H}_{\text{B}}$ ); 7.50 (s; 8  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 5.92 (s; 4  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 4.03 (s; 24  $\text{H}_{\text{OMe}}$ ); -2.73 (s; 2  $\text{H}_{\text{NH}}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 919,7 (100%)

### 3.1.5 Synteza 5-(4-acetamidofenylo)-10,15,20-tri(4-metoksyfenylo)porfiryny (P5)

W 100 ml kwasu propionowego umieszczono 3,26 g (0,02 mola) 4-acetamidobenzaldehydu oraz 8,16 g (0,06 mola) 4-metoksybenzaldehydu. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 1,5 godziny. Po tym czasie około 50 ml kwasu oddestylowano, a pozostałość neutralizowano nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu. Osad otrzymany podczas neutralizacji rozpuszczono w dichlorometanie i przemywano wodą (3x150 ml). Oddzieloną warstwę organiczną suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano i odparowano do sucha. Produkt wydzielano

chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (3:1 v/v)). Otrzymano 457 mg produktu (W= 3%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.87 (m;  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.49, 8.46 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 8.14, 8.12 (d; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.87, 7.85 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.30, 7.28 (d; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 4.10 (s; 9  $\text{H}_\text{OMe}$ ); 2.1 (s; 3 H); -2.75 (s;  $\text{H}_\text{NH}$ )  
ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 762,7 (100%)

### 3.1.6 Synteza 5-(4-aminofenylo)-10,15,20-tri(4-metoksyfenylo)porfiryny (P6)

210 mg (0,276 mmola) 5-(4-acetamidofenylo)-10,15,20-(4-metoksyfenylo)porfiryny umieszczono w mieszaninie 20 ml kwasu trifluorooctowego oraz 21 ml stężonego kwasu solnego i mieszano w temperaturze 80 °C przez 20 godzin. Po tym czasie mieszaninę ochłodzono do temperatury otoczenia i dodano 200 ml wody. Wydzielony zielony osad odsączono i rozpuszczono w 300 ml mieszaniny chloroformu i octanu etylu (3:1 v/v). Warstwę organiczną w 100 ml porcjach przemywano wodą (100 ml), nasyconym roztworem węglanu sodu (100 ml) do zmiany barwy na fioletową i ponownie wodą (100 ml). Następnie połączone warstwy organiczne suszono bezwodnym siarczanem sodu, filtrowano i odparowano do sucha. Otrzymano 145 mg produktu (W= 73%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.87 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.14, 8.12 (d; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 8.00, 7.98 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.30, 7.28 (d; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.07, 7.05 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 4.10 (s;  $\text{H}_\text{OMe}$ ); -2.73 (s;  $\text{H}_\text{NH}$ )  
ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 721,2 (100%)

### 3.1.7 Synteza 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksyfenylo)porfiryny (P7)

#### Synteza 1

W 5 ml dimetyloformamidu rozpuszczono 262 mg (0,386 mmola) 5,10,15,20-tetra-(4-hydroksyfenylo)porfiryny i dodano 24 mg 60% wodorku sodu (0,579 mmola). Po 30 minutach dodano 118 mg (0,386 mmola) bromku cetylu i mieszaninę ogrzewano w temperaturze 80 – 90 °C przez 24 godziny. Po tym czasie dimetyloformamid usunięto na wyparce, do pozostałości dodano 100 ml wody i ekstrahowano (3x50 ml) mieszaniną dichlorometanu z octanem etylu (3 – 2 v/v). Warstwy organiczne połączone, przemywano wodą (3x100 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu i filtrowano. Po usunięciu rozpuszczalników produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)). Otrzymano 55,7 mg produktu (W=16%).



## Synteza 2

0,99 g (8,15 mmola) 4-hydroksybenzaldehydu oraz 0,94 g (2,72 mmola) 4-heksadecyloksybenzaldehydu umieszczono w 50 ml kwasu propionowego i ogrzewano do momentu rozpuszczenia się aldehydów. Następnie dodano 0,77 ml (11,1 mmola) pirolu i całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 1,5 godziny. Po tym czasie oddestylowano 25 ml kwasu propionowego, a pozostałość neutralizowano nasyconym roztworem węglanu sodu. Otrzymany osad filtrowano i przemywano wodą. Produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)). Otrzymano 40 mg produktu (W= 1,6%).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 9.99 (s; 3  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 8.88 (m; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.00, 7.98 (d; 8  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.22, 7.20 (d;  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 4.11 (t; 2 H); 1.78 (m; 2 H); 1.43 (m; 2H); 1.18 (m; 24 H); 0.78 (t; 3 H); -2.85 (s; 2  $\text{H}_{\text{NH}}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 905,0 (100%)

### 3.1.8 Synteza 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(3-hydroksyfenylo)porfiryny (P8)

Do 100 ml kwasu propionowego dodano 3,66 g (0,03 mola) 3-hydroksybenzaldehydu oraz 3,46 g (0,01 mola) 4-heksadecyloksybenzaldehydu i ogrzewano do momentu całkowitego rozpuszczenia aldehydów. Następnie dodano 2,8 ml (0,04 mola) pirolu i ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 1,5 godziny. Po tym czasie oddestylowano około 50 ml kwasu propionowego, a pozostałość neutralizowano nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu. Wydzielony osad sączono, przemywano wodą do momentu uzyskania przezroczystego i obojętnego (wobec papierka uniwersalnego) roztworu oraz suszono. Produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)). Otrzymano 334 mg produktu (W= 3,7%).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 9.89 (s; 3  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 8.90 (m; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.04, 8.02 (d; 2  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.62 (m; 11  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.25 (m; 6  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 4.11 (t; 2 H); 1.74 (m; 2 H); 1.40 (m; 2H); 1.14 (m; 24 H); 0.77 (t; 3 H); -2.92 (s; 2  $\text{H}_{\text{NH}}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 904,8 (100%)

### 3.1.9 Synteza 5-(3-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(3-hydroksyfenylo)porfiryny (P9)

W 5 ml dimetyloformamidu rozpuszczono 250 mg (0,369 mmola) 5,10,15,20-tetra-(3-hydroksyfenylo)porfiryny i dodano 22 mg 60% wodorku sodu (0,554 mmola). Po 30 minutach dodano 112 mg (0,369 mmola) bromku cetylu i mieszaninę ogrzewano w temperaturze 80 – 90 °C przez 24 godziny. Po tym czasie dimetyloformamid usunięto na wyparce, do pozostałości dodano 100 ml wody i ekstrahowano (3x50 ml) mieszaniną dichlorometanu z octanem etylu (3:2 v/v). Warstwy organiczne połączono, przemywano wodą (3x100 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu i filtrowano. Po usunięciu rozpuszczalników produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)). Otrzymano 46,6 mg produktu (W=14%).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 9.88 (s; 3  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 8.88 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 7.76 (m; 2  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.67 (m;  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.59 (m; 9  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.40 (m;  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.25 (m; 3  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 4.16 (t; 2 H); 1.79 (m; 2 H); 1.44 (m; 2H); 1.35 – 1.00 (m; 24 H); 0.76 (t; 3 H); -2.97 (s; 2  $\text{H}_{\text{NH}}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 905,1 (100%)

### 3.1.10 Synteza palmitynianu 5-(4-oksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksyfenylo)porfiryny(P10)

Synteza 1

25,6 mg (0,1 mmola) kwasu palmitynowego rozpuszczono w 10 ml dichlorometanu i dodano 0,1 ml 1M roztworu DCC. Mieszaninę umieszczono w zamrażarce na 5 dni. Po tym czasie całość dodano do roztworu 170 mg (0,253 mmola) 5,10,15,20-tetra-(4-hydroksyfenylo)porfiryny i 10 mg DMAP w 10 ml dimetyloformamidu. Całość mieszano w temperaturze otoczenia, bez dostępu światła przez 24 godziny. Następnie usunięto rozpuszczalniki, a pozostałość rozpuszczono w 100 ml mieszaniny chloroformu i octanu etylu (1:1 v/v). Warstwę organiczną przemywano wodą (3x100 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano i odparowano do sucha. Produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)). Otrzymano 18,1 mg produktu (W= 19,8%).

## Synteza 2

W 5 ml dimetyloformamidu rozpuszczono 212 mg (0,313 mmola) 5,10,15,20-tetra-(4-hydroksyfenylo)porfiryny i dodano 82 mg (0,3 mmola) chlorku kwasu palmitynowego. Całość ogrzewano w temperaturze 80 °C przez 48 godzin. Po tym czasie dodano 100 ml wody oraz 2 ml trietyloaminy. Mieszaninę ekstrahowano roztworem chloroformu z octanem etylu (3:2 v/v; 4x50 ml). Warstwy organiczne połączono, przemywano wodą (5x50 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano, a następnie odparowano do sucha. Produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)). Otrzymano 60,4 mg produktu (W= 22%).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 9.96 (s; 3  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 8.89 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.24, 8.22 (d; 2  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 8.01, 7.99 (d; 6  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.58, 7.56 (d; 2  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.22, 7.20 (d; 6  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 2.74 (t; 2 H); 1.79 – 0.99 (m; 26 H); 0.78 (t; 3 H); -2.70 (s; 2  $\text{H}_{\text{NH}}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 919,0 (100%)

### 3.1.11 Synteza palmitynianu 5-(3-oksyfenylo)-10,15,20-tri(3-hydroksyfenylo)porfiryny (P11)

#### Synteza 1

38,4 mg (0,15 mmola) kwasu palmitynowego rozpuszczono w 10 ml dichlorometanu i dodano 0,15 ml 1M roztworu DCC. Mieszaninę umieszczono w zamrażarce na 5 dni. Po tym czasie całość dodano do roztworu 214 mg (0,315 mmola) 5,10,15,20-tetra-(3-hydroksyfenylo)porfiryny i 10 mg DMAP w 10 ml dimetyloformamidu. Całość mieszano w temperaturze otoczenia, bez dostępu światła przez 24 godziny. Następnie usunięto rozpuszczalniki, a pozostałość rozpuszczono w 100 ml mieszaniny chloroformu i octanu etylu (1:1 v/v). Warstwę organiczną przemywano wodą (3x100 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano i odparowano do sucha. Produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)). Otrzymano 25,3 mg produktu (W= 18,4%).

#### Synteza 2

W 5 ml dimetyloformamidu rozpuszczono 250 mg (0,369 mmola) 5,10,15,20-tetra-(3-hydroksyfenylo)porfiryny i dodano 96 mg (0,35 mmola) chlorku kwasu palmitynowego. Całość ogrzewano w temperaturze 80 °C przez 48 godzin. Po tym czasie dodano 100 ml wody oraz 2 ml trietyloaminy. Mieszaninę ekstrahowano roztworem chloroformu z octanem etylu (3:2 v/v; 4x50 ml). Warstwy organiczne połączono, przemywano wodą (5x50 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano, a następnie odparowano

do sucha. Produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)). Otrzymano 48,1 mg produktu (W= 15%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO-d}_6$ ),  $\delta$  (ppm): 9.91 (s; 3  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 8.89 (s; 8  $\text{H}_{\text{B}}$ ); 8.13 (m;  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.99 (m;  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.87 (m;  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.61 (m; 9  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.26 (m; 4  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 1.69 (t; 2 H); 1.34 – 0.97 (m; 26 H); 0.77 (t; 3 H); -2.98 (s; 2  $\text{H}_{\text{NH}}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 918,9 (100%)

### **3.1.12 Synteza 5-(4-heksadecyloksy-3-metoksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)porfiryny (P12)**

W 10 ml dimetyloformamidu rozpuszczono 520 mg (0,651 mmola) 5,10,15,20-tetra-(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)porfiryny i dodano 52,1 mg 60% wodorku sodu. Całość mieszano przez 30 minut, po czym dodano 198 mg (0,65 mmola) bromku cetylu. Mieszaninę mieszano w temperaturze 90 °C przez 24 godziny. Następnie usunięto dimetyloformamid i dodano 150 ml wody. Produkt ekstrahowano dichlorometanem (3x50 ml). Warstwy organiczne połączono, przemywano wodą (3x100 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) magnezu, odparowano do sucha i oczyszczano chromatograficznie (żel krzemionkowy / dichlorometan – metanol (60:1 v/v)). Otrzymano 73,1 mg produktu (W= 11%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.97 (s; 8  $\text{H}_{\text{B}}$ ); 7.82 (s;  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.78 (m; 8  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.35, 7.33 (d; 3  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 6.02 (s; 3  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 4.34 (t; 2 H); 4.04 (s; 9  $\text{H}_{\text{OMe}}$ ); 4.01 (s; 3  $\text{H}_{\text{OMe}}$ ); 2.09 (m; 2 H); 1.66 (m; 2 H); 1.31 (m; 24 H); 0.92 (t; 3 H); -2.70 (s;  $\text{H}_{\text{NH}}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 1024,2 (100%)

### **3.1.13 Synteza palmitynianu 5-(4-oksy-3-metoksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksy-3-metoksyfenylo) porfiryny (P13)**

W 5 ml dimetyloformamidu rozpuszczono 100 mg (0,125 mmola) 5,10,15,20-tetra-(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)porfiryny i dodano 25,6 mg (0,1 mmola) chlorku kwasu palmitynowego. Całość ogrzewano w temperaturze 80 °C przez 48 godzin. Po tym czasie usunięto dimetyloformamid i dodano 100 ml wody z 2 ml trietyloaminy. Mieszaninę ekstrahowano dichlorometanem (4x50 ml). Warstwy organiczne połączono, przemywano wodą (3x100 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano, a następnie odparowano do sucha. Produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)). Otrzymano 12,4 mg produktu (W= 12%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.97 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 7.84 (m; 9  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.35, 7.33 (d; 3  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 6.00 (s; 3  $\text{H}_\text{OH}$ ); 4.06 (s; 9  $\text{H}_\text{OMe}$ ); 4.01 (s; 3  $\text{H}_\text{OMe}$ ); 1.69 (t; 2 H); 1.30 – 0.97 (m; 26 H); 0.77 (t; 3 H); -2.71 (s; 2  $\text{H}_\text{NH}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 1037,2

### **3.1.14 Synteza 5-(4-heksadecyloksy-3,5-dimetoksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksy-3,5-dimetoksyfenylo)porfiryny (P14)**

W 10 ml dimetyloformamidu rozpuszczono 332 mg (0,361 mmola) 5,10,15,20-tetra-(4-hydroksy-3,5-dimetoksyfenylo)porfiryny i dodano 24 mg 60% wodorku sodu. Całość mieszano przez 30 minut, po czym dodano 110 mg (0,36 mmola) bromku cetylu. Mieszaninę mieszano w temperaturze 90 °C przez 24 godziny. Następnie usunięto dimetyloformamid i dodano 100 ml wody. Produkt ekstrahowano dichlorometanem (3x50 ml). Warstwy organiczne połączono, przemywano wodą (3x100 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) magnezu, odparowano do sucha i oczyszczano chromatograficznie (żel krzemionkowy / dichlorometan – metanol (100:1 v/v)). Otrzymano 91 mg produktu (W= 22%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 9.00 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 7.54 (s; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.52 (s; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 5.98 (s; 3  $\text{H}_\text{OH}$ ); 4.37 (t; 2 H); 4.07 (s; 18  $\text{H}_\text{OMe}$ ); 4.01 (s; 6  $\text{H}_\text{OMe}$ ); 2.05 (m; 2 H); 1.70 (m; 2 H); 1.31 (m; 24 H); 0.92 (t; 3 H); -2.69 (s;  $\text{H}_\text{NH}$ );

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 1145,0

### **3.1.15 Synteza palmitynianu 5-(4-oksy-3,5-dimetoksyfenylo)-10,15,20-tri(4-hydroksy-3,5-dimetoksyfenylo) porfiryny (P15)**

W 5 ml dimetyloformamidu rozpuszczono 150 mg (0,163 mmola) 5,10,15,20-tetra-(4-hydroksy-3,5-dimetoksyfenylo)porfiryny i dodano 41 mg (0,15 mmola) chlorku kwasu palmitynowego. Całość ogrzewano w temperaturze 80 °C przez 48 godzin. Po tym czasie usunięto dimetyloformamid i dodano 100 ml wody z 2 ml trietyloaminy. Mieszaninę ekstrahowano dichlorometanem (4x50 ml). Warstwy organiczne połączono, przemywano wodą (3x100 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano, a następnie odparowano do sucha i oczyszczano chromatograficznie (żel krzemionkowy / dichlorometan – metanol (100:1 v/v)). Otrzymano 34 mg produktu (W= 19%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.99 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 7.56 (s; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.50 (s; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 5.95 (s; 3  $\text{H}_\text{OH}$ ); 4.11 (s; 18  $\text{H}_\text{OMe}$ ); 4.03 (s; 6  $\text{H}_\text{OMe}$ ); 1.63 (t; 2 H); 1.33 – 1.01 (m; 26 H); 0.79 (t; 3 H); -2.68 (s; 2  $\text{H}_\text{NH}$ ); ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 1157,6

### 3.1.16 Synteza 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-metoksyfenylo)-porfiryny (P16)

W 10 ml dichlorometanu rozpuszczono 128 mg (0,5 mmola) kwasu palmitynowego i dodano 0,5 ml (0,5 mmola) 1M roztworu DCC. Całość umieszczono w zamrażarce na 4 doby. Po tym czasie w 10 ml dichlorometanu rozpuszczono 30,1 mg (0,0419 mmola) 5-(4-aminofenylo)-10,15,20-tri(4-metoksyfenylo)porfiryny. Do mieszaniny dodano przygotowany wcześniej roztwór kwasu palmitynowego z DCC i całość mieszano przez dobę w temperaturze otoczenia. Po upływie 24 godzin do mieszaniny dodano kolejne 50 ml dichlorometanu, przemywano wodą (3x50 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano i odparowano do sucha. Produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / dichlorometan – metanol (100:1 v/v)). Otrzymano 29,3 mg produktu (W= 73%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.87 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.56, 8.54 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 8.16 (m; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.89, 7.87 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.44 (s;  $\text{H}_\text{ArNH}$ ); 4.10 (s;  $\text{H}_\text{OMe}$ ); 2.52 (t; 2 H); 1.88 (m; 2 H); 1.45 – 1.28 (m; 24 H); 0.91 (t; 3 H); -2.73 (s;  $\text{H}_\text{NH}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 959,8 (100%)

### 3.1.17 Synteza 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-hydroksyfenylo)-porfiryny (P17)

2,39 g (6,66 mmola) N-(4-formylofenylo) amidu kwasu palmitynowego oraz 2,44 g (20 mmoli) 4-hydroksybenzaldehydu umieszczono w 100 ml kwasu propionowego i ogrzewano do całkowitego rozpuszczenia aldehydów. Następnie dodano 1,9 ml (27 mmoli) pirolu i całość ogrzewano przez 1,5 godziny w temperaturze wrzenia. Po tym czasie oddestylowano około 50 ml kwasu a pozostałość, wystudzone i neutralizowano nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu. Wydzielony osad odsączono i suszono. Związek wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)) otrzymując 152 mg produktu (W= 2,5%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 10.31 (s;  $\text{H}_\text{NH}$ ) 9.97 (s; 3  $\text{H}_\text{OH}$ ); 8.89 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.15, 8.13 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 8.09, 8.07 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 8.03, 8.01 (d; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.24, 7.22 (d; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 1.71 (t; 2 H); 1.28 – 1.12 (m; 26 H); 0.79 (t; 3 H); -2.85 (s; 2  $\text{H}_\text{NH}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 916,2

### **3.1.18 Synteza 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-N,N-dimetyloamino-fenylo)porfiryny (P18)**

3,59 g (0,01 mola) amidu N-(4-formylofenylo) kwasu palmitynowego oraz 4,3 g (0,029 mola) 4-N,N-dimetyloaminobenzaldehydu umieszczono w 120 ml kwasu propionowego i ogrzewano do całkowitego rozpuszczenia aldehydów, po czym dodano 2,8 ml (0,04 m) pirolu i ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 1,5 godziny. Następnie zatężono mieszaninę do objętości około 50 ml oddestylowując kwas propionowy. Pozostałość neutralizowano nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu, a wydzielony osad sączono i suszono. Związek wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / dichlorometan – metanol (60:1 v/v)) otrzymując 130 mg produktu (W= 1,3%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.96 (m; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.12 (m; 8  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.81, 7.79 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.11, 7.09 (d; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 3.24 (s; 18  $\text{H}_\text{Me}$ ); 2.43 (t; 2 H); 1.64 (m; 2 H); 1.33 (m; 24 H); 0.93 (t; 3 H); -2.55 (s;  $\text{H}_\text{NH}$ );

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 997,3

### **3.1.19 Synteza trijodku 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-trimetylo-amoniofenylo)porfiryny (P19)**

50 mg (0,05 mmola) 5-(4-palmitylaminofenylo)-10,15,20-tri(4-N,N-dimetyloamino-fenylo)porfiryny umieszczono w 5 ml (80 mmoli) jodku metylu. Mieszaninę zamknięto szczelnie w ampule z kranem teflonowym, ogrzewano i mieszano w temperaturze 100 °C przez 3 doby. Po tym czasie usunięto nadmiar jodku metylu, a do pozostałości dodano 200 ml wody. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 2 godziny i sączono na gorąco. Przesącz odparowano do sucha uzyskując 33 mg (W= 47%) produktu.

ESI-MS  $[\text{M}-3\text{I}]^{3+}$ : 347,3;  $[\text{M}-2\text{I}]^{2+}$ : 514,1

### **3.1.20 Synteza cynkowej pochodnej 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-N,N-dimetyloaminofenylo)porfiryny (P20)**

100 mg (0,1 mmola) 5-(4-palmitylaminofenylo)-10,15,20-tri(4-N,N-dimetyloamino-fenylo)porfiryny rozpuszczono w 30 ml chloroformu i dodano 500 mg (2,28 mmola) dwuwodnego octanu cynku. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia monitorując przebieg reakcji za pomocą UV-VIS do momentu gdy w widmie absorbcyjnym obecne były tylko dwa pasma Q (po około 4 godzinach). Po tym czasie roztwór ochłodzono do temperatury otoczenia i dodano 70 ml chloroformu. Warstwę organiczną przemywano

wodą (3x100 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano i odparowano do sucha. Zmetalizowaną porfiryne oczyszczono na krótkiej kolumnie chromatograficznej (żel krzemionkowy / dichlorometan – metanol (50 – 1 v/v)) otrzymując 94 mg (W= 88%) produktu.

ESI-MS  $[M+H]^+$ : 1061,5

### **3.1.21 Synteza cynkowej pochodnej trijodku 5-[4-(heksadekanoamido)fenylo]-10,15,20-tri(4-trimetyloamoniofenylo)porfiryny (P21)**

50 mg (0,047 mmola) cynkowej pochodnej 5-(4-palmitoaminoamino)fenylo)-10,15,20-tri(4-N,N-dimetyloaminoamino)fenylo)porfiryny umieszczono w 5 ml (80 mmoli) jodku metylu. Mieszaninę zamknięto szczelnie w ampule z kranem teflonowym, ogrzewano i mieszano w temperaturze 100 °C przez 3 doby. Po tym czasie usunięto jodek metylu, a do pozostałości dodano 250 ml wody. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 3 godziny i sączono na gorąco. Przesącz odparowano do sucha uzyskując 29 mg (W= 41%) produktu.

ESI-MS  $[M-3I]^{3+}$ : 368,0

### **3.1.22 Synteza 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(4-N,N-dimetyloaminoamino)fenylo)porfiryny (P22)**

3,46 g (0,01 mola) 4-heksadecyloksybenzaldehydu oraz 4,47 g (0,03 mola) 4-N,N-dimetyloaminoamino)benzaldehydu umieszczono w 120 ml kwasu propionowego i ogrzewano do momentu całkowitego rozpuszczenia aldehydów. Następnie dodano 2,8 ml (0,04 m) pirolu i ogrzewano w temperaturze łagodnego wrzenia przez 2 godziny. Po tym czasie oddestylowano około 70 ml kwasu propionowego, a pozostałość neutralizowano nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu. Po odsączeniu i wysuszeniu wydzielonego osadu produkt izolowano chromatograficznie (żel krzemionkowy / dichlorometan – metanol (60:1 v/v)) otrzymując 220 mg związku (W= 2,2%).

$^1H$  NMR ( $CDCl_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.95 (s; 8  $H_B$ ); 8.14 (m; 8  $H_{Ar}$ ); 7.31 (d; 2  $H_{Ar}$ ); 7.14, 7.12 (d; 6  $H_{Ar}$ ); 4.27 (t; 2 H); 3.26 (s; 18  $H_{Me}$ ); 2.01 (m; 2 H); 1.66 (m; 2 H); 1.32 (m; 24 H); 0.93 (t; 3 H); -2.56 (s;  $H_{NH}$ )

ESI-MS  $[M+H]^+$ : 984,5



### **3.1.23 Synteza trijodku 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(4-trimetyloamoniufenylo)porfiryny (P23)**

50 mg (0,05 mmola) 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri(4-N,N-dimetyloamino-fenylo)porfiryny umieszczono w 5 ml (80 mmoli) jodku metylu. Mieszaninę zamknięto szczelnie w ampule z kranem teflonowym, ogrzewano i mieszano w temperaturze 100 °C przez 3 doby. Po tym czasie usunięto nadmiar jodku metylu, a do pozostałości dodano 200 ml wody. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 2 godziny i sączono na gorąco. Przesącz odparowano do sucha uzyskując 33 mg (W= 47%) produktu.

ESI-MS  $[M-3I]^{3+}$ : 343,0;  $[M-2I]^{2+}$ : 506,8

### **3.1.24 Synteza 5,10,15,20-tetra(4-aminofenylo)porfiryny (P24)**

9,81 g (0,065 mola) p-nitrobenzaldehydu dodano do 150 ml kwasu propionowego. Całość ogrzewano do momentu całkowitego rozpuszczenia aldehydu. Następnie dodano 4,5 ml (0,065 mola) pirolu i całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez godzinę. Po tym czasie mieszaninę ochłodzono do temperatury otoczenia i dodano 100 ml chloroformu. Wydzielony osad odsączono pod zmniejszonym ciśnieniem i przemywano chloroformem (3x100 ml). Otrzymano 9,68 g osadu, który bez oczyszczania poddano redukcji.

#### **Redukcja**

9,68 g osadu rozpuszczono w 350 ml stężonego kwasu solnego. Do mieszaniny dodano roztwór 35 g chlorku cyny (II) w 40 ml stężonego kwasu solnego. Całość mieszano w temperaturze otoczenia przez 90 minut, następnie temperaturę podwyższono do 65 °C i utrzymywano w niej mieszaninę przez kolejne 30 minut. Po tym czasie mieszaninę umieszczono w łaźni lodowej i neutralizowano w ciągu 30 minut roztworem stężonego amoniaku. Do zneutralizowanego roztworu dodano 1000 ml chloroformu i mieszano w temperaturze otoczenia przez 18 godzin, po czym rozdzielono warstwy. Do warstwy wodnej dodano 1200 ml wody i ekstrahowano chloroformem (3x150 ml). Warstwy organiczne połączono i przemyto 600 ml wodnego roztworu amoniaku (1:10 v/v). Warstwę organiczną oddzielono, zatężono do objętości około 400 ml i przesączono. Przesącz zatężano do objętości 200 ml i dodano 150 ml etanolu z 10 ml stężonego amoniaku. Mieszaninę ponownie zatężono do objętości 150 ml i dodano 100 ml etanolu. Po zredukowaniu objętości do około 50 ml wytrącony osad przesączono i przemywano kilkakrotnie małymi porcjami etanolu. Otrzymano 164 mg produktu (W= 1,6%)

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 8.87 (s; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 7.86, 7.84 (d; 8  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.01, 6.99 (d; 8  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 5.56 (s; 8  $\text{H}_{\text{NH}_2}$ ); -2.74 (s; 2  $\text{H}_{\text{NH}}$ )  
ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 676,0 (100%)

### 3.1.25 Synteza 5,10,15,20-tetra(3-hydroksyfenylo)chloryny (Ch1)

W 10 ml pirydyny rozpuszczono 100 mg (0,15 mmola) 5,10,15,20-tetra(3-hydroksyfenylo)porfiryryny. Do roztworu dodano 140 mg (0,75 mmola) hydrazynu kwasu p-toluenosulfonowego oraz 200 mg (1,44 mmola) węglanu potasu. Całość ogrzewano w temperaturze łagodnego wrzenia przez 2 godziny. Spektrofotometrycznie kontrolowano wzrost pasma przy długości fali 650 nm. Dodano kolejną porcję 140 mg hydrazynu oraz 200 mg węglanu potasu i ogrzewano kolejne 2 godziny w temperaturze wrzenia. Po tym czasie w widmie absorpcyjnym zaobserwowano wzrost pasma przy 650 nm oraz pojawienie się pasma przy 730 nm świadczącego o powstawaniu bakteriochloryny. Reakcję przerwano, usunięto rozpuszczalnik, a do pozostałości dodano 50 ml octanu etylu. Warstwę organiczną przemywano 1M kwasem solnym (3x50 ml). Połączone warstwy nieorganiczne ekstrahowano 50 ml octanu etylu. Warstwy organiczne połączono i przemywano wodą (2x50 ml), nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu (50 ml), ponownie wodą (2x50 ml). Następnie suszono bezwodnym siarczanem (VI) magnezu i filtrowano. Do roztworu dodawano w 5 ml porcjach roztwór chloranilu w toluenie o stężeniu 20 mg/ml i mieszano w temperaturze otoczenia do momentu całkowitego zaniku pasma przy 730 nm. Następnie warstwę organiczną przemywano 5% roztworem siarczanu (IV) sodu (2x50 ml), wodą (50 ml), nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu (50 ml) i ponownie wodą (2x50 ml). Po osuszeniu bezwodnym siarczanem (VI) magnezu usunięto rozpuszczalnik, a produkt oczyszczano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (3:1 v/v)) otrzymując 54 mg związku ( $W=53\%$ ).

$^1\text{H}$  NMR (DMSO- $d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 9.89 (s; 4  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 8.68 (d; 2  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.34 (s; 2  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.27, 8.24 (d; 2  $\text{H}_\text{B}$ ); 7.56 (m; 12  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.14 (s; 4  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 4.18 (s; 4  $\text{H}_{\text{pir}}$ ); -1.61 (s;  $\text{H}_{\text{NH}}$ )  
ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 682,5

### 3.1.26 Synteza 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri-(3-hydroksyfenylo)chloryny (Ch2)

W 10 ml pirydyny rozpuszczono 100 mg (0,11 mmola) 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-tri-(3-hydroksyfenylo)porfiryryny. Do mieszaniny dodano 103 mg (0,55 mmola) hydrazynu kwasu p-toluenosulfonowego i 153 mg (1,11 mmola) węglanu potasu. Całość

ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 2 godziny, następnie dodano kolejną porcję hydrazynu i węglanu. Mieszaninę ogrzewano przez kolejną godzinę kontrolując za pomocą spektrofotometru wzrost pasma przy 650 nm. Kiedy stosunek intensywności pasma Soreta i pasma 650 nm wynosił 6:1 reakcję zakończono i usunięto rozpuszczalnik. Do pozostałości dodano 50 ml dichlorometanu. Warstwę organiczną przemywano 1M kwasem solnym (3x50 ml). Połączone warstwy nieorganiczne ekstrahowano 50 ml dichlorometanu. Warstwy organiczne połączono i przemywano wodą (2x50 ml), nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu (50 ml), ponownie wodą (2x50 ml). Następnie suszono bezwodnym siarczanem (VI) magnezu i filtrowano. Do roztworu dodawano w 5 ml porcjach roztwór chloranilu w toluenie o stężeniu 20 mg/ml i mieszano w temperaturze otoczenia do momentu całkowitego zaniku pasma przy 730 nm. Następnie warstwę organiczną przemywano 5% roztworem siarczanu (IV) sodu (2x50 ml), wodą (50 ml), nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu (50 ml) i ponownie wodą (2x50 ml). Po osuszeniu bezwodnym siarczanem (VI) magnezu usunięto rozpuszczalnik, a produkt oczyszczano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (5:1 v/v)) otrzymując 54 mg związku (W= 53%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{DMSO}-d_6$ ),  $\delta$  (ppm): 9.80 (s; 3  $\text{H}_{\text{OH}}$ ); 8.63 (m; 2  $\text{H}_{\text{B}}$ ); 8.38 (m; 2  $\text{H}_{\text{B}}$ ); 8.24 (m; 2  $\text{H}_{\text{B}}$ ); 7.56 (m; 7  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.27 (s; 4  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.17 (m; 4  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 4.14 (s;  $\text{H}_{\text{pir}}$ ); 4.10 (t; 2 H); 4.03 (t;  $\text{H}_{\text{pir}}$ ); 1.76 (m; 2 H); 1.43 (m; 2 H); 1.17 (m; 24 H); 0.79 (t; 3 H); -1.62 (s; 2  $\text{H}_{\text{NH}}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 907,1

### 3.1.27 Synteza 5-(4-hydroksyfenylo)-10,15,20-trifenyloporfiryny (P25)

2,2 g (0,018 mola) p-hydroksybenzaldehydu oraz 5,72 g (0,054 mola) benzaldehydu umieszczono w 300 ml kwasu propionowego i ogrzewano do całkowitego rozpuszczenia aldehydów. Następnie dodano 5 ml (0,072 mola) pirolu. Całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 1 godzinę. Po tym czasie mieszaninę pozostawiono w temperaturze otoczenia przez dobę, po czym odsączono wydzielony osad. Produkt wydzielono chromatograficznie (żel krzemionkowy / dichlorometan) uzyskując 0,68 g związku (W= 6%)

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.88 (m; 8  $\text{H}_{\text{B}}$ ); 8.26 (m; 6  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 8.09, 8.07 (d; 2  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.79 (m; 9  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.18, 7.16 (d; 2  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); -2.73 (s;  $\text{H}_{\text{NH}}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 630,9

### 3.1.28 Synteza 5-(4-heksadecyloksyfenylo)-10,15,20-trifenyloporfiryny (P26)

W 10 ml dimetyloformamidu rozpuszczono 100 mg (0,158 mmola) 5-(4-hydroksyfenylo)-10,15,20-trifenyloporfiryny i dodano 40 mg (1 mmol) 60% wodorku sodu. Całość ogrzewano w temperaturze 80 °C przez 30 minut po czym dodano 484 mg (1,58 mmola) bromku cetylu. Mieszaninę ogrzewano w temperaturze 80 °C przez kolejne 3 godziny. Następnie usunięto dimetyloformamid, a do pozostałości dodano 50 ml wody oraz 50 ml dichlorometanu. Warstwy rozdzielono. Warstwę organiczną przemywano wodą (3x50 ml), suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano i odparowano do sucha. Za pomocą chromatografii kolumnowej (żel krzemionkowy / dichlorometan – heksan (1:1 v/v)) wyodrębniono 100 mg produktu (W= 74%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.89 (m; 8  $\text{H}_\text{B}$ ); 8.28 (m; 6  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 8.16, 8.14 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.80 (m; 9  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 7.31, 7.29 (d; 2  $\text{H}_\text{Ar}$ ); 4.26 (t; 2 H); 2.01 (m; 2 H); 1.66 (m; 2 H); 1.33 (m; 24 H); 0.93 (t; 3 H); -2.69 (s;  $\text{H}_\text{NH}$ )

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 840,1

### 3.1.29 Synteza 5,15-di(4-hydroksyfenylo)-10,20-di(4-nitrofenylo)porfiryny (P27)

W 5 ml dimetylosulfotlenku zawierającego 0,5 g (9,34 mmola) chlorku amonu rozpuszczono 0,698 g (2,6 mmola) 5-(4-nitrofenylo)dipirometanu oraz 0,317 g (2,6 mmola) 4-hydroksybenzaldehydu. Całość ogrzewano w temperaturze 90 °C przez 18 godzin, po czym chłodzono w ciągu 3 godzin do temperatury otoczenia. Do pozostałości dodano 50 ml wody. Produkt ekstrahowano chloroformem (3x50 ml), połączone warstwy organiczne suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano i odparowano do sucha. Produkt oczyszczano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – octan etylu (6:1 v/v)) otrzymując 18 mg związku (W= 1,9%).

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 737,4

### 3.1.30 Synteza chlorku kwasu palmitynowego (Z1)

W 200 ml benzenu rozpuszczono 5,12 g (0,02 m) kwasu palmitynowego i dodano 6,81 ml (0,1 m) chlorku tionylu. Całości ogrzewano w temperaturze 70 °C przez 3 godziny. Po tym czasie usunięto na wyparce rozpuszczalnik oraz nieprzereagowny chlorek tionylu, a pozostałość destylowano próżniowo w celu wyodrębnienia produktu ( $t_{\text{wrtz}} = 174\text{ °C}/2\text{ mmHg}$ ).<sup>105</sup> Otrzymano 4,52 g chlorku kwasu palmitynowego (W=82%).

### 3.1.31 Synteza 4-heksadecyloksybenzaldehydu (Z2)

12,2 g (0,1 mola) 4-hydroksybenzaldehydu oraz 20,7 g (0,15 mola) węglanu potasu umieszczono w 100 ml acetonu i ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 30 minut. Następnie do mieszaniny dodano 45,75 g (0,15 mola) bromku cetylu i całość ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 5 godzin. Po tym czasie mieszaninę ochłodzono. Wydzielony osad odsączono i przemyto 100 ml acetonu. Aceton usunięto na wyparce, a do pozostałości dodano 100 ml chloroformu. Do osadu dodano 150 ml chloroformu oraz 200 ml wody. Po rozpuszczeniu soli nieorganicznych w wodzie, warstwy rozdzielono. Warstwy chloroformowe połączono, przemywano 100 ml wody, 100 ml solanki i ponownie 100 ml wody, następnie suszono bezwodnym siarczanem (VI) sodu, filtrowano i odparowano do sucha. Produkt wyodrębniano chromatograficznie (żel krzemionkowy / chloroform – heksan (1:1 v/v)). Otrzymano 23,24 g (W= 67,2%) związku o temperaturze topnienia 51 °C (lit. 48 °C).<sup>106</sup>

### 3.1.32 Synteza 4-aminobenzaldehydu (Z3)

Do 40 ml wody dodano 6 g (0,025 mola) dziewięciowodnego siarczku sodu, 3,2 g (0,1 mola) siarki oraz 1 g (0,025 mola) wodorotlenku sodu i ogrzewano w temperaturze 80 °C przez około 30 minut mieszając co jakiś czas. W międzyczasie przygotowano roztwór 3,42 g (0,025 m) p-nitrotoluenu w 20 ml etanolu, który następnie dodano do roztworu przygotowanego wcześniej. Mieszaninę ogrzewano w temperaturze wrzenia przez 2 godziny, następnie destylowano z parą wodną do uzyskania około 150 ml destylatu. Po destylacji pozostałą mieszaninę umieszczono w łaźni lodowej na 3 godziny. Wydzielony osad sączono pod zmniejszonym ciśnieniem i przemywano 50 ml lodowatej wody. Otrzymano 1,72 g produktu (W= 57%) o temperaturze topnienia 67 °C (lit. 68 - 70 °C).<sup>107</sup>

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>), δ (ppm): 9.76 (s; H<sub>CHO</sub>); 7.71, 7.69 (d; 2 H<sub>Ar</sub>); 6.72, 6.70 (d; 2 H<sub>Ar</sub>); 4.34 (s; 2 H<sub>NH</sub>)

### 3.1.33 Synteza N-(4-formylofenylo) amidu kwasu palmitynowego (Z4)

W 50 ml dimetyloformamidu i 5 ml pirydyny rozpuszczono 2,42 g (0,02 mola) 4-aminobenzaldehydu oraz 6,86 g (0,025 mola) chlorku kwasu palmitynowego. Całość mieszano w temperaturze otoczenia przez 7 dni. Po tym czasie rozpuszczalniki usunięto na wyparce, a pozostałość rozpuszczono w mieszaninie dichlorometanu i heksanu (1:2 v/v)

i pozostawiono do krystalizacji. Wydzielony osad odsączono uzyskując 5,1 g (W= 71%) produktu.

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 9.94 (s; 1 H); 7.88, 7.86 (d; 2  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.75, 7.73 (d; 2  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.57 (s; 1  $\text{H}_{\text{ArNH}}$ ); 2.44 (t; 2 H); 1.79 (m; 2 H); 1.37 – 1.27 (m; 24 H); 0.91 (t; 3 H)

### 3.1.34 Synteza 5-(4-nitrofenylo)dipirometanu (Z6)

W 17 ml (0,24 mola) świeżo destylowanego pirolu rozpuszczono 0,755 g (0,005 mola) 4-nitrobenzaldehydu. Mieszaninę przepłukiwano argonem przez 30 minut, po czym dodano 0,25 ml eteratu trifluorku boru. Całość mieszano w temperaturze otoczenia przez 35 minut. Po tym czasie do mieszaniny dodano 100 ml dichlorometanu, przemywano 100 ml 0,1M wodorotlenku sodu i wodą (2x100 ml). Warstwę organiczną suszono bezwodnym siarczanem sodu (VI), filtrowano i odparowano do sucha. Produkt oczyszczano chromatograficznie (żel krzemionkowy / dichlorometan – octan etylu - trietyloamina (95:5:1 v/v/v)). Otrzymano 0,71 g produktu (W= 53%).

$^1\text{H}$  NMR ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$  (ppm): 8.2, 8.18 (d; 2  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 7.41, 7.38 (d; 2  $\text{H}_{\text{Ar}}$ ); 8.02 (s; 1  $\text{H}_{\text{NH}}$ ); 6.78 (m; 2 H); 6.20 (m; 2 H); 5.90 (m; 2 H); 5.61 (s; 1 H)

ESI-MS  $[\text{M}+\text{H}]^+$ : 267,0 (100%)

### 3.2 Lipofilowość

Lipofilowość otrzymanych związków określano za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Porfiryny chromatografowano na płytkach RP-18 F<sub>254</sub> (20x20 cm, Merck, Darmstadt, Germany). Roztwory (500 µg/ml) związków sporządzono w dichlorometanie i nakropiono na płytkę (5µl). Chromatogramy rozwijano do wysokości 17 cm, w temperaturze pokojowej, po uprzednim nasyceniu komory parami fazy ruchomej przez 30 minut. Chromatogramy rozwijano w dwóch układach (MeOH, MeOH-CHCl<sub>3</sub> 8:2 v/v) i suszono na powietrzu. Eksperyment dla każdego układu został powtórzony trzy razy. Chromatografowane związki identyfikowano wizualnie.

### 3.3 Spektroskopia UV – VIS

Widma absorpcyjne otrzymanych związków wykonano na spektrofotometrze Genesys 6 ThermoSpectronic. Pomiarów dokonano w kuwecie kwarcowej o drodze optycznej 1 cm, w zakresie długości fali od 300 do 800 nm. W celu wyznaczenia molowych współczynników absorpcji dla pasma Soreta, stężenia roztworów fotouczulaczy ustalono na poziomie 10<sup>-6</sup> M, dla pasm Q natomiast stężenia były rzędu 10<sup>-4</sup> M. Badane związki rozpuszczano w metanolu, chloroformie lub toluenie, a pomiary przeprowadzono w temperaturze otoczenia.

### 3.4 Spektroskopia emisyjna – fluorescencja

Widma fluorescencyjne zarejestrowano w temperaturze otoczenia na spektrofluorymetrze Eclipse Cary firmy Varian. W celu uniknięcia procesów wygaszania fluorescencji związanych ze stężeniem fotosensybilizatora wartość absorbancji roztworów przygotowanych do pomiarów była w zakresie 0,02 – 0,05 przy długości fali wzbudzającej (420 nm). Pomiary przeprowadzono w kuwecie kwarcowej o drodze optycznej 1 cm. Przed pomiarem próbkę przepłukiwano argonem przez 30 minut. Pomiary przeprowadzono w metanolu lub toluenie. W celu wyznaczenia kwantowej wydajności fluorescencji dokonano porównania widm emisyjnych próbki i wzorca. Jako wzorzec stosowano tetrafenyloporfiryne.

### 3.5 Czasy życia stanów trypletowych

Czasy życia stanów trypletowych wyznaczono za pomocą laserowej fotolizy błyskowej. Pomiarów dokonano w Zakładzie Fizyki Ciała Stałego Instytutu Fizyki Uniwersytetu Śląskiego na aparacie LKS 60 marki Applied Photophysics. Aparat wyposażony jest w laser Nd:YAG, detekcyjną lampę ksenonową o mocy 150 watów firmy OSRAM oraz fotopowielacz spełniający rolę detektora. W celu ustalenia długości fali, przy której występuje maksimum absorpcji tryplet – tryplet zarejestrowano widma absorpcji przejściowej w zakresie 350 – 800 nm. Absorbancja badanych roztworów była na poziomie 0,2 – 0,3 przy długości fali wzbudzającej lasera (355 nm). Napięcie fotopowielacza dobrano tak, by poziom oświetlenia próbki wywoływał sygnał na poziomie 300 mV. Pomiarów dokonano w kwarcowej kuwecie (droga optyczna wiązki detekcyjnej – 1 cm) dla roztworów metanolowych lub toluenowych w temperaturze otoczenia, w warunkach równowagi z powietrzem oraz zbliżonych do beztlenowych po przepłukiwaniu próbki argonem przez 30 minut.

### 3.6 Kwantowa wydajność tlenu singletowego

Kwantowa wydajność generowania tlenu singletowego również została wyznaczona za pomocą laserowej fotolizy błyskowej na aparacie LKS 60 firmy Appleid Photophysics. Wielkością mierzoną był zanik charakterystycznej fosforescencji tlenu singletowego o długości fali 1270 nm. Absorbancja użytych do pomiarów roztworów wynosiła  $0,2 \pm 0,01$ . Badano zależność intensywności luminescencji tlenu singletowego od energii impulsu lasera wzbudzającego. Pomiarów dokonywano w metanolu lub toluenie wobec wzorców, którymi były fenalenon lub tetrafenyloporfiryra.

### 3.7 Fotostabilność

Fotostabilność związków badano za pomocą lampy firmy OPTTEL o mocy 1000 watów. Pomiarów przeprowadzano w temperaturze otoczenia, naświetlając próbkę światłem białym o natężeniu  $108 \text{ mW/cm}^2$  przez 1 minutę, 2 minuty, 5, 10, 20, 30 i 60 minut. Po każdej ekspozycji roztworu fotouczulacza na światło, spektrofotometrycznie mierzono absorbancję porównując ją następnie z absorbancją związku przed naświetlaniem.



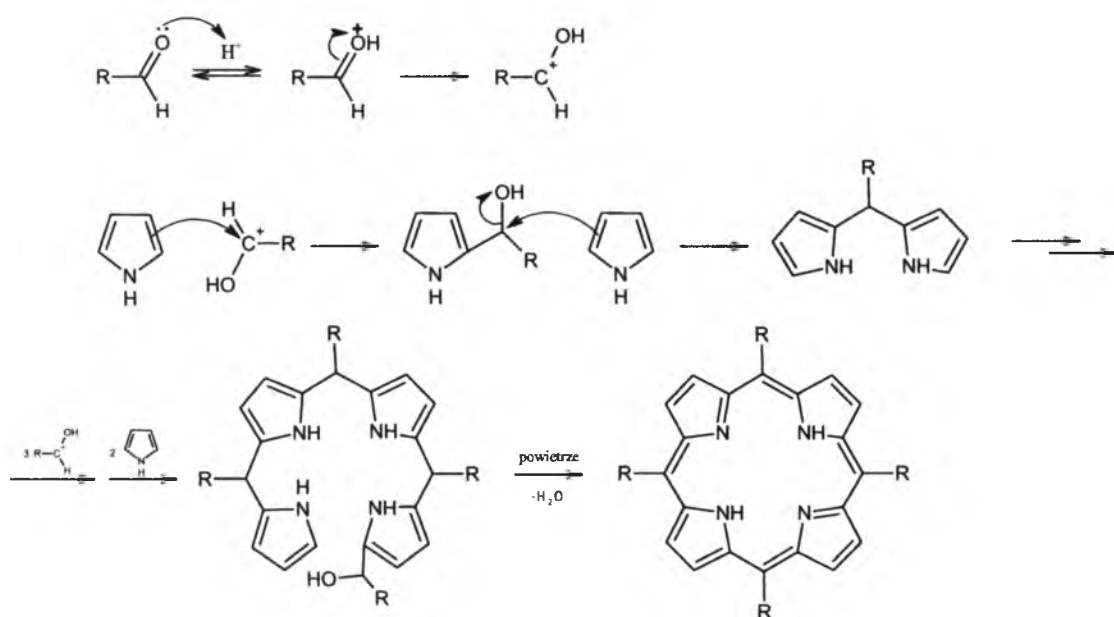
## 4. Omówienie przeprowadzonych badań

### 4.1 Omówienie przeprowadzonych syntez

W ramach przeprowadzonych syntez otrzymano szereg związków pochodnych tetraaryloporfiryryny, które zasadniczo można zakwalifikować do pochodnych hydroksylowych lub aminowych tetrafenyloporfiryryny. Wybór tych związków podyktowany był głównie faktem, iż tetra(3-hydroksyfenylo)chloryna, a zatem zredukowana forma hydroksylowej pochodnej tetrafenyloporfiryryny, stosowana jest jako lek w terapii fotodynamicznej. Pochodne aminowe z kolei zostały wybrane ze względu na możliwość ich czwartorzędowania, a więc otrzymywania związków potencjalnie rozpuszczalnych w wodzie, co jest szczególnie istotne w kontekście zastosowania związku jako leku. Otrzymane wyjściowe pochodne hydroksylowe bądź aminowe zostały następnie poddane modyfikacjom strukturalnym, polegającym na przyłączeniu jednego, długiego łańcucha alifatycznego. Celem tego zabiegu było otrzymanie struktury, która byłaby skłonna do wbudowania się w liposom, tak by uzyskać swego rodzaju fotouczulacz trzeciej generacji, a więc układ fotouczulacz (porfiryryna) – nośnik (liposom). Wybór szesnastowęglowego łańcucha alkilowego jako hydrofobowego fragmentu otrzymywanych związków związany jest z budową liposomów, które potencjalnie mogłyby spełniać rolę nośnika. Liposomy to struktury zbudowane z podwójnej warstwy lipidowej, posiadające charakter zarówno hydrofobowy jak i hydrofilowy, dzięki czemu możliwe jest zamykanie w nich różnych cząstek, w tym również porfiryryn. Porfiryryny mają skłonność do agregacji, a proces ten powoduje zmiany ich właściwości fizykochemicznych oraz wytrącanie z roztworów. Aby tego uniknąć można je wbudowywać w liposom, dzięki czemu będą odizolowane od siebie w sposób mechaniczny, co będzie zmniejszało możliwość ich agregacji. Do otrzymywania liposomów przeznaczonych jako nośniki leków stosowana jest często dipalmitoylofosfatydylocholina oraz fosfolipidy posiadające w swej budowie inne kwasy tłuszczowe (najczęściej C14 lub C18).<sup>108-110</sup> Obecność długołańcuchowego fragmentu w strukturze fotouczulacza może pomóc w jego wbudowywaniu się w liposom. Biorąc pod uwagę budowę błony komórkowej organizmów żywych można również przypuszczać, że fragment długołańcuchowy ułatwiałby niezwiązanemu z żadnym nośnikiem związkowi w jej wnikanie.

### 4.1.1 Synteza porfiryn

Pierwszym etapem pracy eksperymentalnej było otrzymanie wyjściowych porfiryn. Spośród kilku znanych metod otrzymywania porfiryn wykorzystano głównie metodę Adlera – Longo. Reakcję pomiędzy odpowiednimi aldehydami i pirolem prowadzono w środowisku wrzącego kwasu propionowego. Reakcja ta prawdopodobnie przebiega według przedstawionego poniżej mechanizmu.

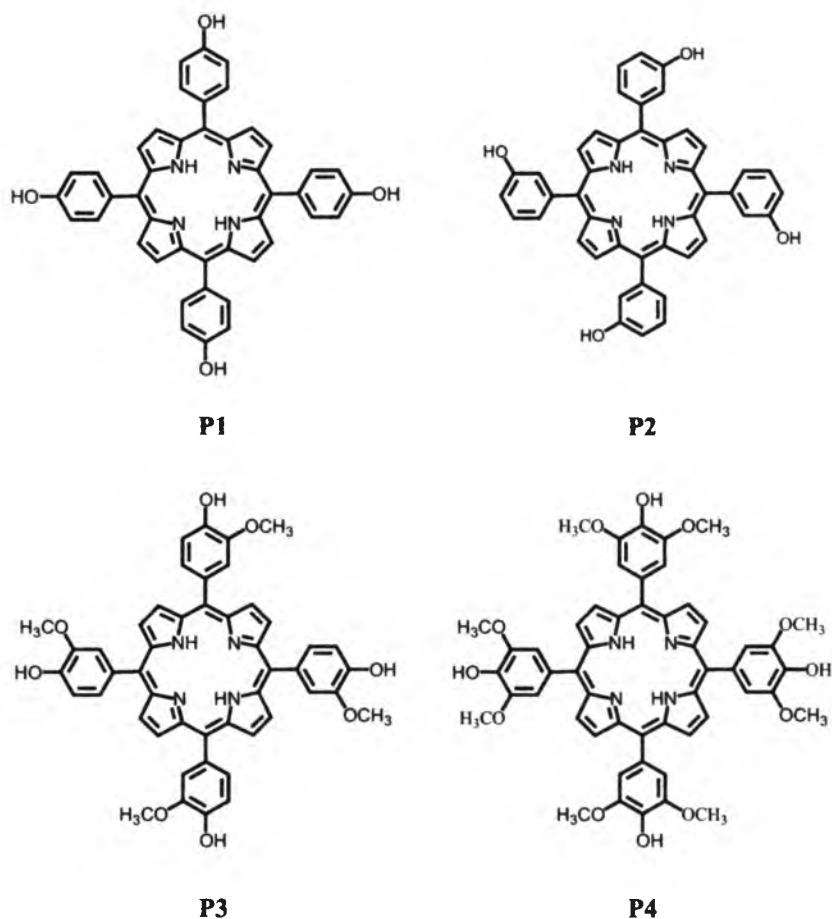


Rys. 4.1.1 Mechanizm syntezy porfiryny

W pierwszym etapie następuje protonowanie atomu tlenu w cząsteczce aldehydu, w wyniku czego tworzy się karbokation będący dalej czynnikiem elektrofilowym reagującym z cząsteczką pirolu. Źródłem protonów jest kwas propionowy, w środowisku którego biegnie reakcja. W kolejnych etapach przyłączane są następne cząsteczki pirolu i aldehydu w wyniku czego powstaje  $\alpha$ -podstawiony tetrapirolowy oligomer.<sup>111</sup> W ostatnim etapie następuje zamknięcie pierścienia oraz jego aromatyzacja.

### 4.1.2 Tetra(hydroksyfenylo)porfiryny

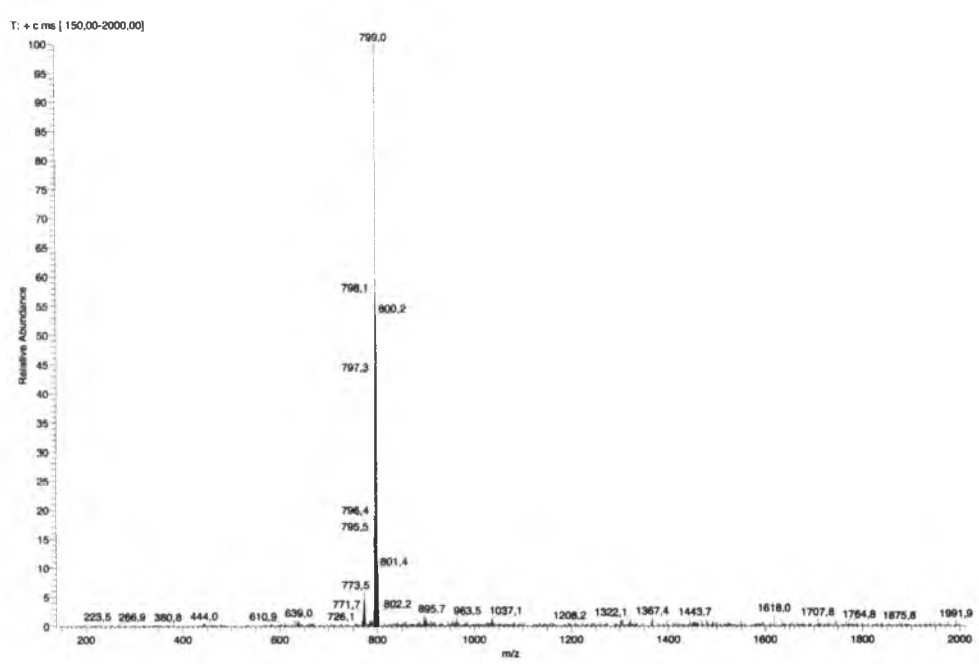
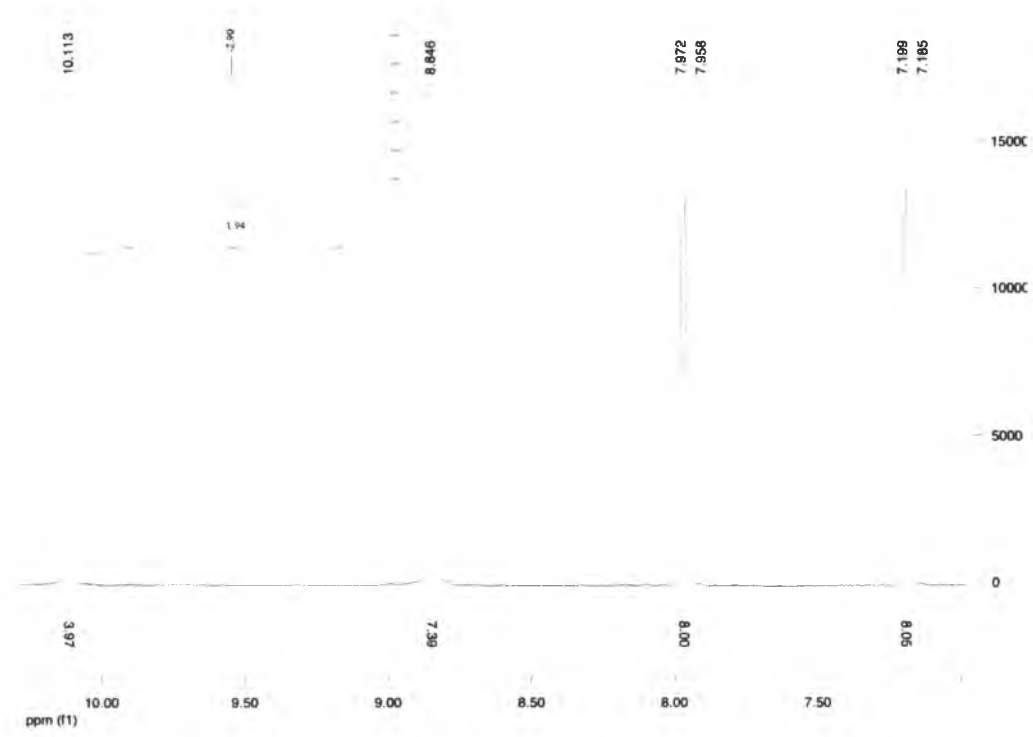
Spośród wyjściowych hydroksylowych pochodnych tetrafenyloporfiryny otrzymano 5,10,15,20-tetra(4-hydroksyfenylo)porfiryne (**P1**), 5,10,15,20-tetra-(3-hydroksyfenylo)porfiryne (**P2**), 5,10,15,20-tetra(4-hydroksy-3-metoksyfenylo)porfiryne (**P3**) oraz 5,10,15,20-tetra(4-hydroksy-3,5-dimetoksyfenylo)porfiryne (**P4**). Na rysunkach 4.1.2 i 4.1.3 przedstawiono struktury otrzymanych związków oraz wybrane widmo masowe i protonowego rezonansu magnetycznego.



Rys. 4.1.2 Struktury związków **P1** – **P4**

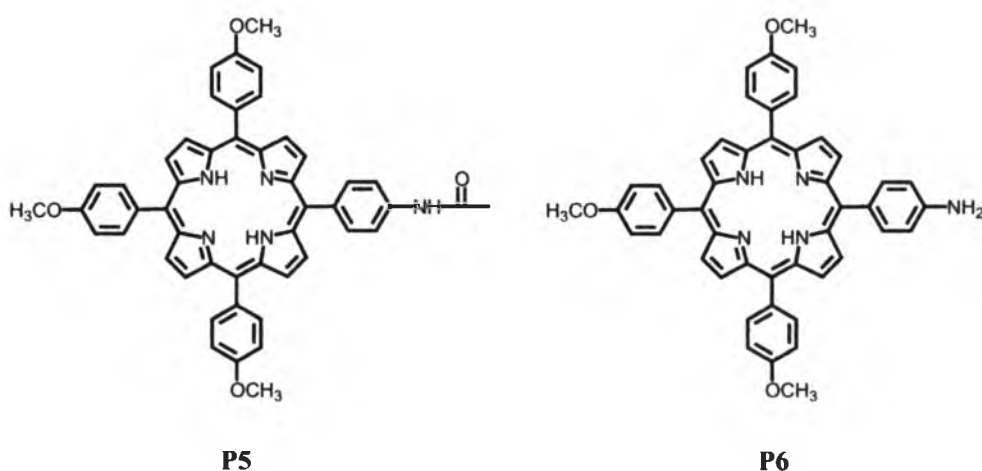
Związki te były znane wcześniej, ale sposób ich otrzymywania był odmienny od tutaj opisanego. Szczególnie związki **P1** oraz **P2** otrzymuje się zwykle z aldehydów z zabezpieczoną grupą hydroksylową. Najczęściej grupą zabezpieczającą jest grupa eterowa lub estrowa. Po otrzymaniu odpowiedniej „zabezpieczonej” porfiryne w kolejnym

etapie następuje demetylacja (w przypadku grup metoksyowych) lub hydroliza estru. W pracy natomiast otrzymano omawiane porfiryny w syntezie jednoetapowej, wychodząc z odpowiednich hydroksybenzaldehydów.



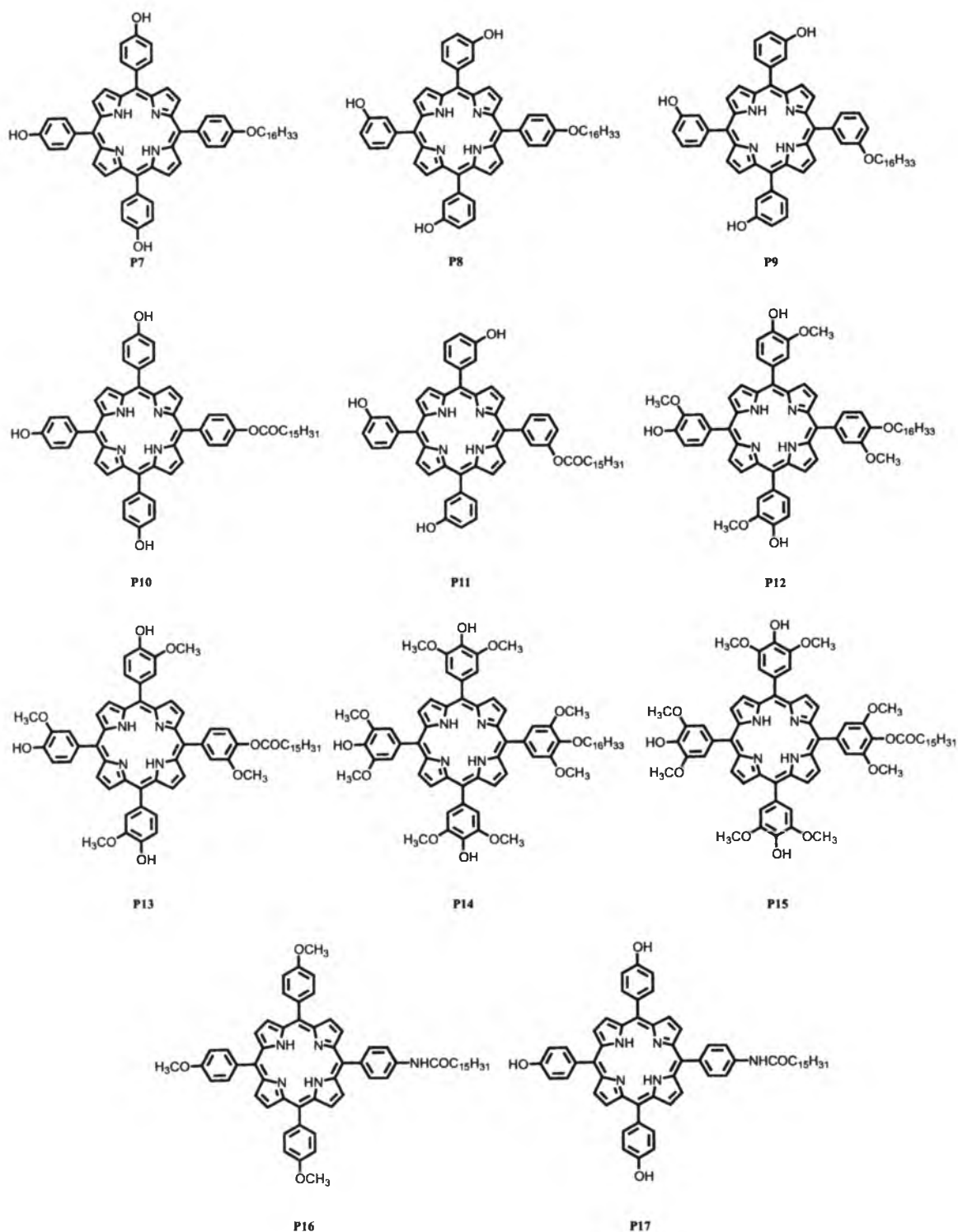
Rys. 4.1.3 Widmo <sup>1</sup>HNMR związku **P1** oraz ESI-MS związku **P3**

Również 5-(4-acetamidofenylo)-10,15,20-tri(4-metoksyfenylo)porfiryne (**P5**) oraz zhydrolizowaną jego formę (**P6**) można uznać za swego rodzaju wyjściowe pochodne hydroksylowe, z tym, że w tym przypadku grupy hydroksylowe zostały zablokowane grupami metylowymi, zmieniając całkowicie charakter związku. Obecność grup metoksywch w związkach wpływała na ich właściwości hydrofobowo-hydrofilowe, co zostanie omówione w kolejnym rozdziale.



Rys. 4.1.4 Struktury związków **P5** i **P6**

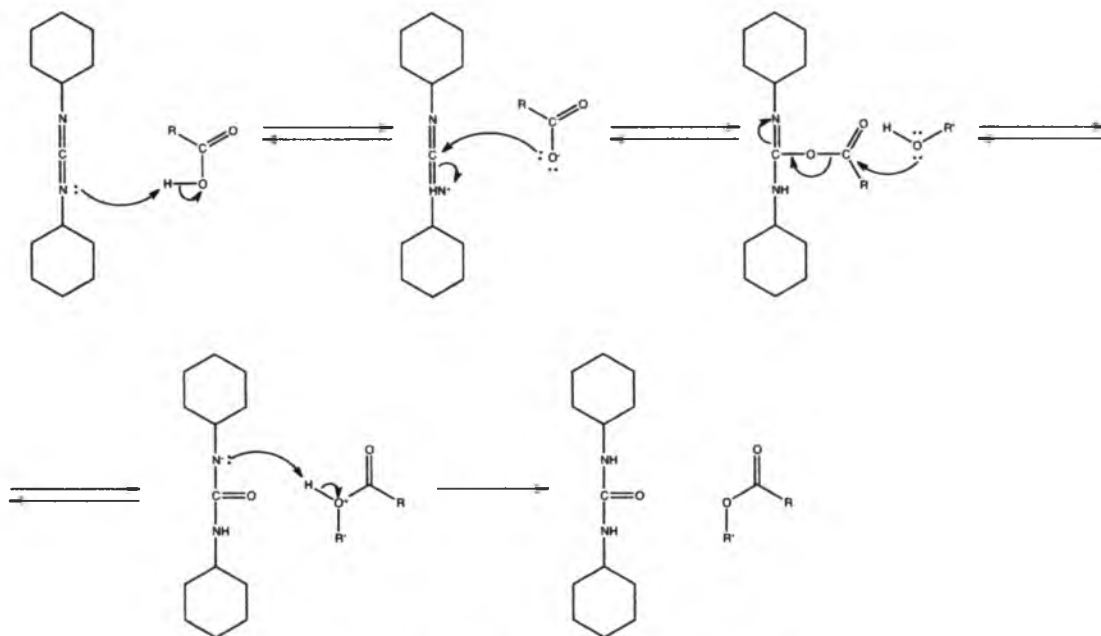
Następne etapy prac laboratoryjnych skupione były na modyfikacjach strukturalnych otrzymanych wcześniej związków wyjściowych. Celem było otrzymanie pochodnych z jednym szesnastowęglowym łańcuchem. Różny typ wiązania przez które zostały przyłączone hydrofobowe „ogony“ może mieć wpływ na ewentualny późniejszy metabolizm związku w organizmie. Otrzymano pochodne eterowe, estrowe oraz amidowe. Z biologicznego punktu widzenia najlepszymi związkami, ulegającymi rozkładowi w organizmach żywych byłyby pochodne estrowe i amidowe.



Rys. 4.1.5 Struktury związków **P7** – **P17**

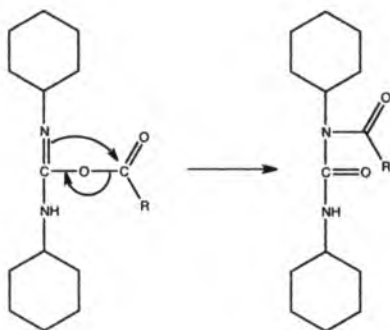
Estry kwasu palmitynowego otrzymywano dwoma sposobami. Pierwszy z nich polegał na bezpośredniej reakcji pomiędzy grupą hydroksylową porfiryny, a chlorkiem kwasu palmitynowego (**Z1**), który otrzymano wcześniej w reakcji kwasu palmitynowego z chlorkiem tionylu. Drugim sposobem na otrzymanie estru była reakcja z wykorzystaniem

dicykloheksylokarbodiimidu (DCC). Prawdopodobny mechanizm drugiej reakcji przedstawiono poniżej.



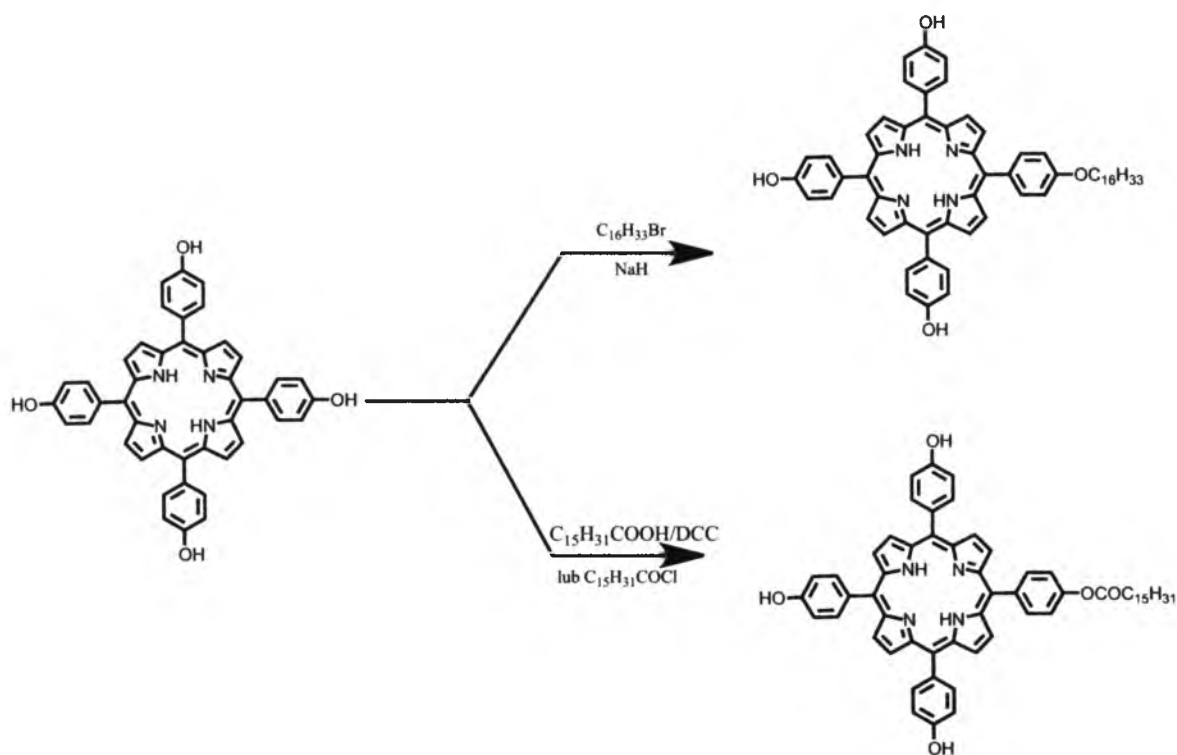
Rys. 4.1.6 Mechanizm estryfikacji z użyciem DCC

Pierwszy etap reakcji polega na aktywowaniu cząsteczki kwasu karboksylowego dicykloheksylokarbodiimidem, który stanowi dobrą grupę opuszczającą. Tak aktywowany kwas reaguje następnie z cząsteczką alkoholu dając ester, natomiast DCC przyłączając cząsteczkę wody przekształca się w dicykloheksylomocznik. Reakcja ta katalizowana jest przez 4-N,N-dimetyloaminopirydynę (DMAP) i nazywana jest estryfikacją Steglicha.<sup>112</sup> Pewną niedogodnością związaną ze stosowaniem DCC jest przegrupowanie do jakiego może dojść w aktywowanym tą cząsteczką kwasie. W wyniku przegrupowania powstaje nieraktywny amid (Rys. 4.1.7). Aby przeciwdziałać temu przegrupowaniu reakcję prowadzi się w niskich temperaturach. W przypadku omawianej reakcji metoda z zastosowaniem chlorku kwasowego jest wygodniejszą metodą otrzymywania estrów kwasu palmitynowego porfiryn. Wynika to ze stosunkowo prostej i szybkiej reakcji otrzymywania chlorku kwasu palmitynowego. Sama reakcja estryfikacji z użyciem chlorku kwasowego trwa krócej, przy czym wydajności obu reakcji (z zastosowaniem DCC i chlorku kwasu palmitynowego) są podobne.



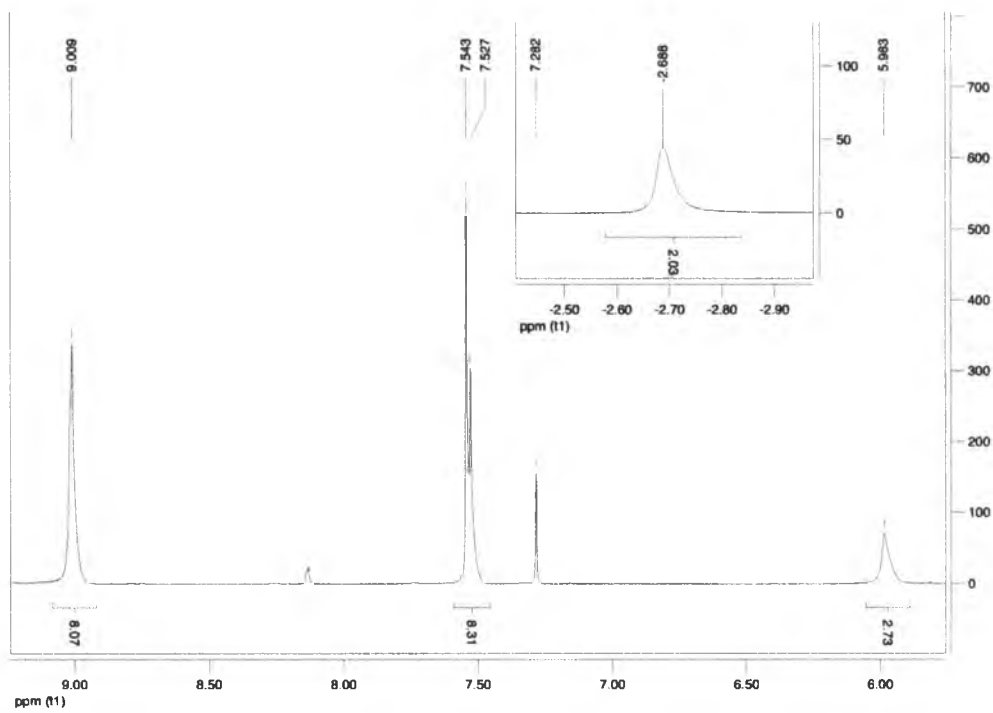
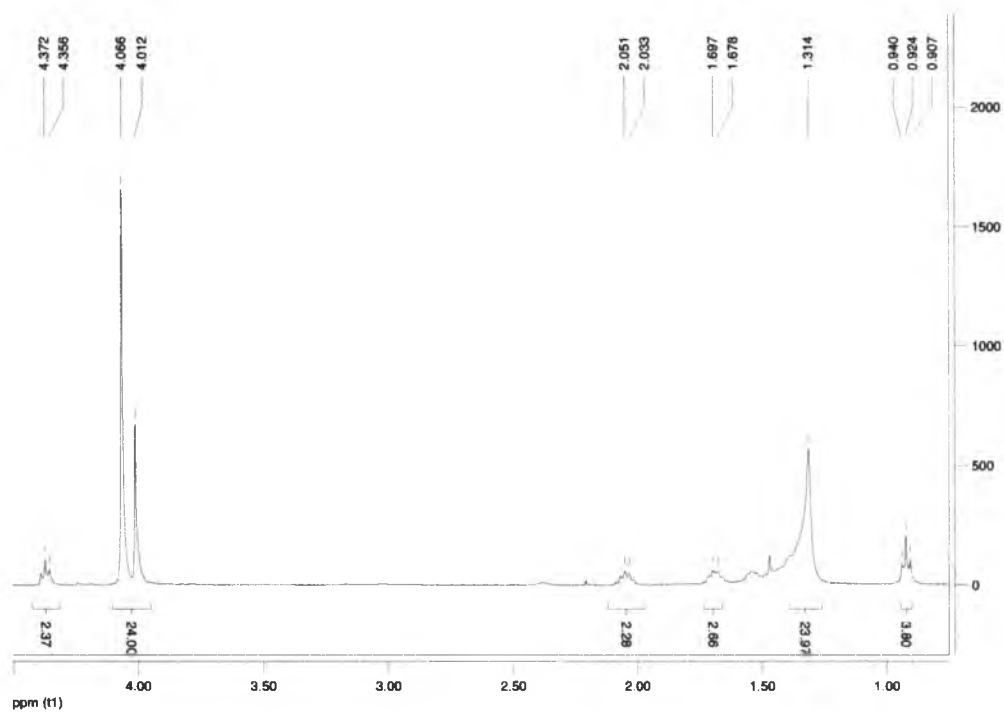
Rys. 4.1.7 Przegrupowanie w aktywowanym DCC estrze

Jedną z najbardziej popularnych metod otrzymywania eterów jest synteza Williamsona, polegająca na reakcji odpowiednich halogenków lub tosylianów z alkoholem w obecności zasady. Pierwszy etap reakcji polega na powstaniu alkoholanu w wyniku reakcji zasady z alkoholem, który następnie reaguje z odpowiednim halogenkiem lub tosylianem według mechanizmu  $S_N2$ .



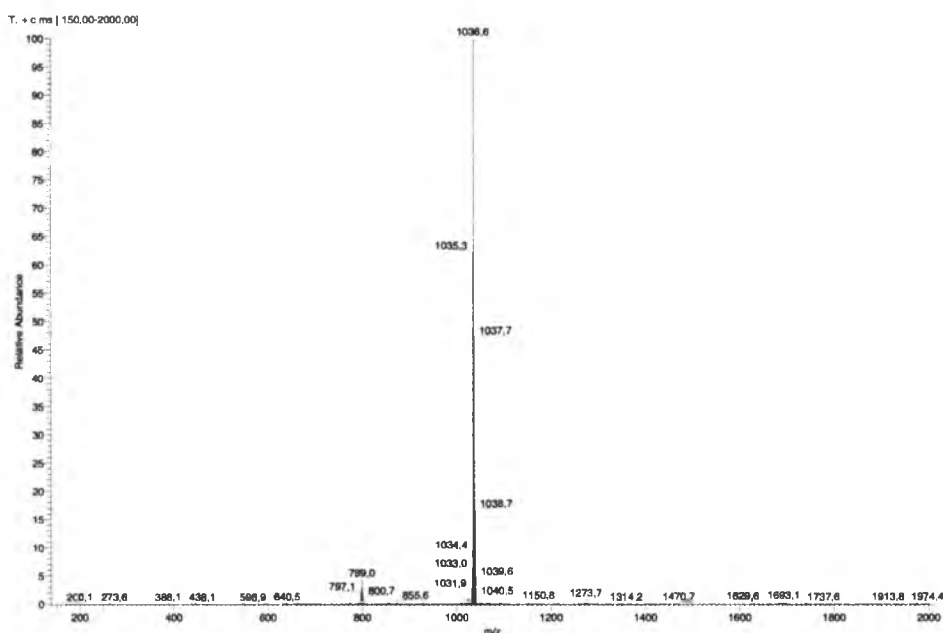
Rys. 4.1.8 Schemat reakcji przyłączania łańcucha





Rys. 4.1.9 Widmo <sup>1</sup>HNMR związku P14

Również amidy można otrzymywać z zastosowaniem DCC jako czynnika sprzęgającego. Związek **P16** został otrzymany w wyniku reakcji pochodnej aminowej **P6** z kwasem palmitynowym aktywowanym DCC. Reakcja przebiega według podobnego mechanizmu jak w przypadku estrów, jednak do jej zajścia nie jest wymagany DMAP jako katalizator.

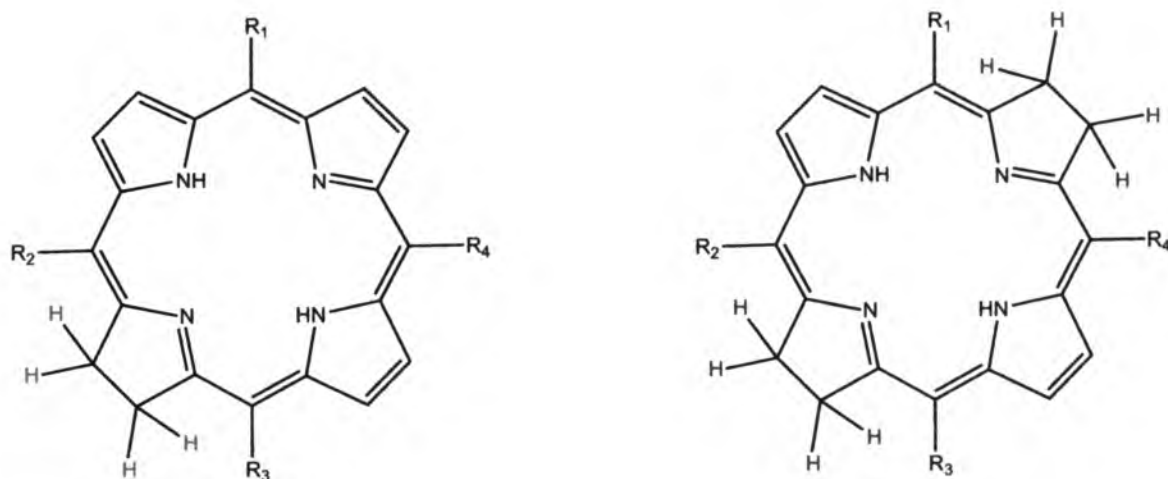


Rys. 4.1.10 Widmo ESI-MS związku **P13**

Inna metoda otrzymywania porfiryń z przyłączonym łańcuchem polegała na wcześniejszym otrzymaniu odpowiedniego aldehydu, a następnie jego wykorzystaniu w syntezie porfiryń. W taki sposób otrzymano związek **P8**. W przypadku omawianej porfiryń metoda ta wydaje się jedyną słuszną drogą jej syntezy. Już samo otrzymanie najpierw odpowiedniej tetra(hydroksyfenylo)porfiryń byłoby trudne ze względu na problemy z izolacją odpowiednich izomerów. Poddanie jej następnie reakcji z bromkiem cetylu wiązałoby się z otrzymaniem trzech monopodstawionych izomerów, których rozdzielenie może być niemożliwe lub bardzo kłopotliwe.

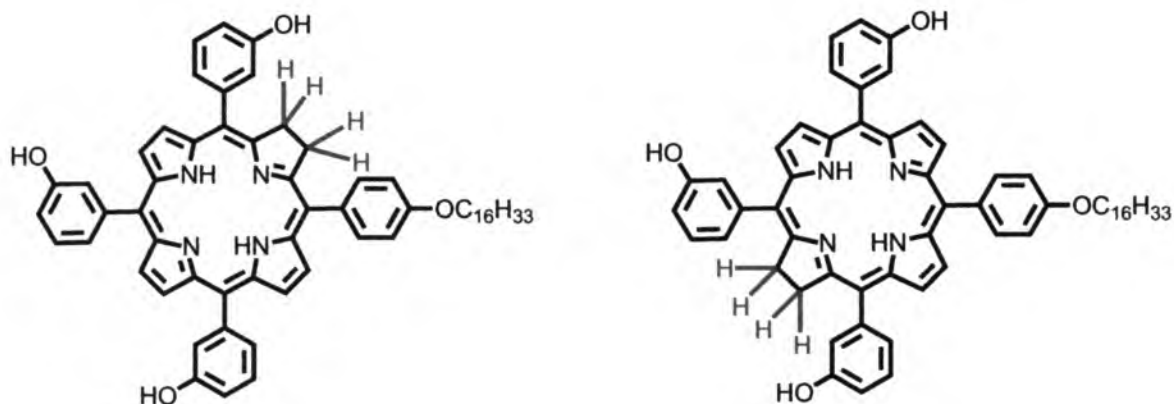
### 4.1.3 Chloryny

Porfiryry należą od grupy związków, których właściwości pozwalają przypuszczać, że mogą mieć zastosowanie w medycynie jako fotouczulacze. Dobry fotouczulacz powinien spełniać szereg kryteriów stawianych tego typu związkom, między innymi powinien posiadać jak najwyższy molowy współczynnik absorpcji w zakresie długofalowym światła widzialnego. Cecha ta występuje w chlorynach. Uwodornienie wiązań podwójnych w pozycjach  $\beta$  pierścienia porfiryrynowego prowadzi do otrzymania odpowiednich chloryn, jeśli uwodornienie nastąpi tylko w jednym miejscu lub bakteriochloryn, gdy zredukowane zostaną dwie takie pozycje. Konsekwencją takiej redukcji jest kilkukrotny wzrost intensywności pasma pojawiającego się przy około 650 nm w przypadku chloryn, czy pojawienie się intensywnego pasma przy około 730 nm w przypadku bakteriochloryn.



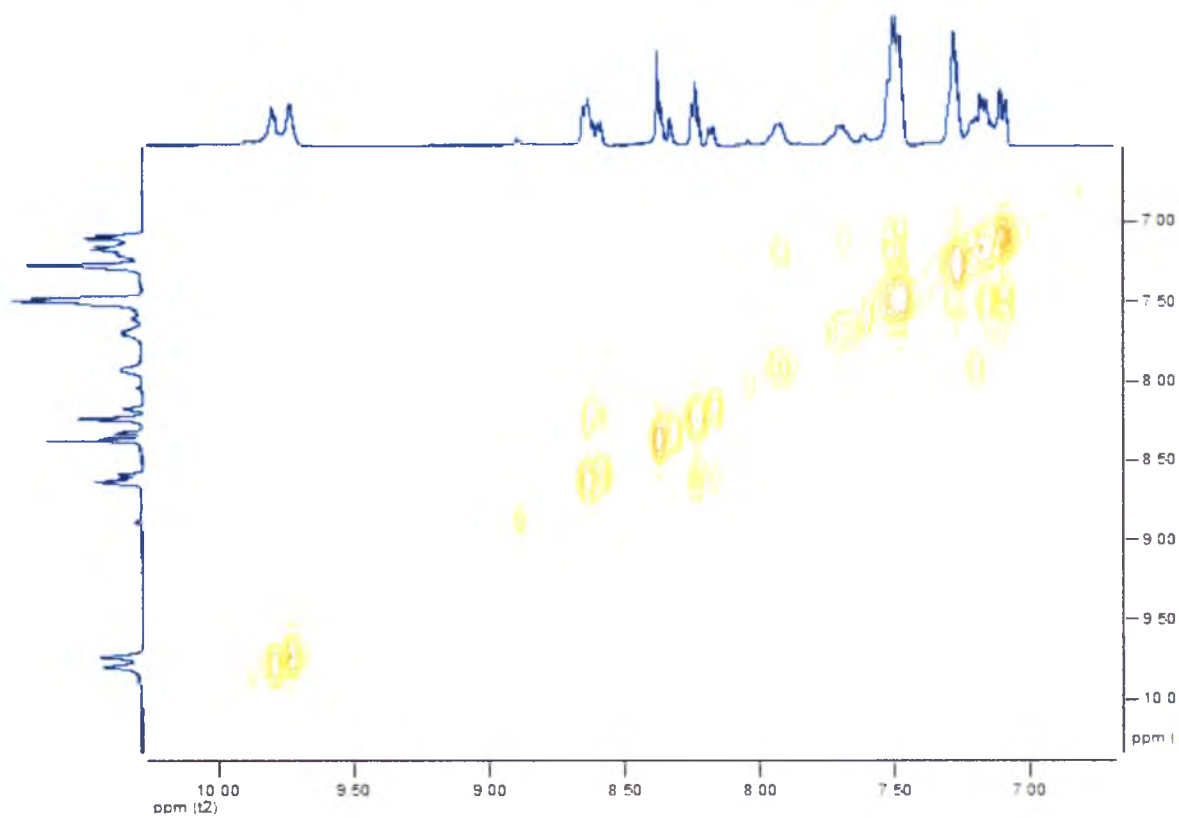
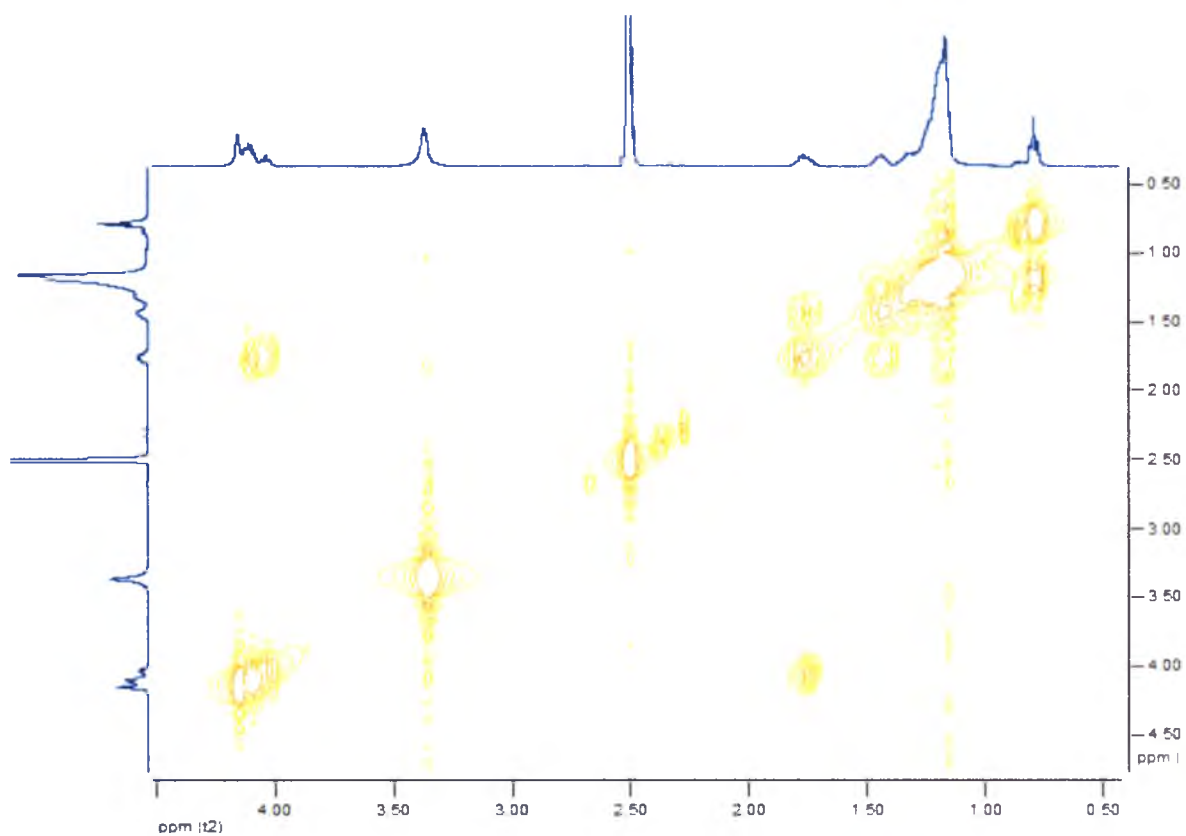
Rys. 4.1.11 Struktura chloryny (po lewej) i bakteriochloryny (po prawej)

Istnieje wiele metod otrzymywania chloryn i bakteriochloryn. Do otrzymania chloryn przedstawionych w pracy użyto metody łagodnej redukcji z użyciem p-toluenosulfonylohydrazidu jako środka redukującego. W wyniku przeprowadzonych reakcji otrzymano chlorynę **Ch1**, która jest zredukowaną formą **P2**, a więc związkiem z powodzeniem stosowanym w praktyce klinicznej, znanym pod handlową nazwą Foscan. Otrzymano również chlorynę **Ch2**, a więc zredukowaną porfiryrynę **P8**.



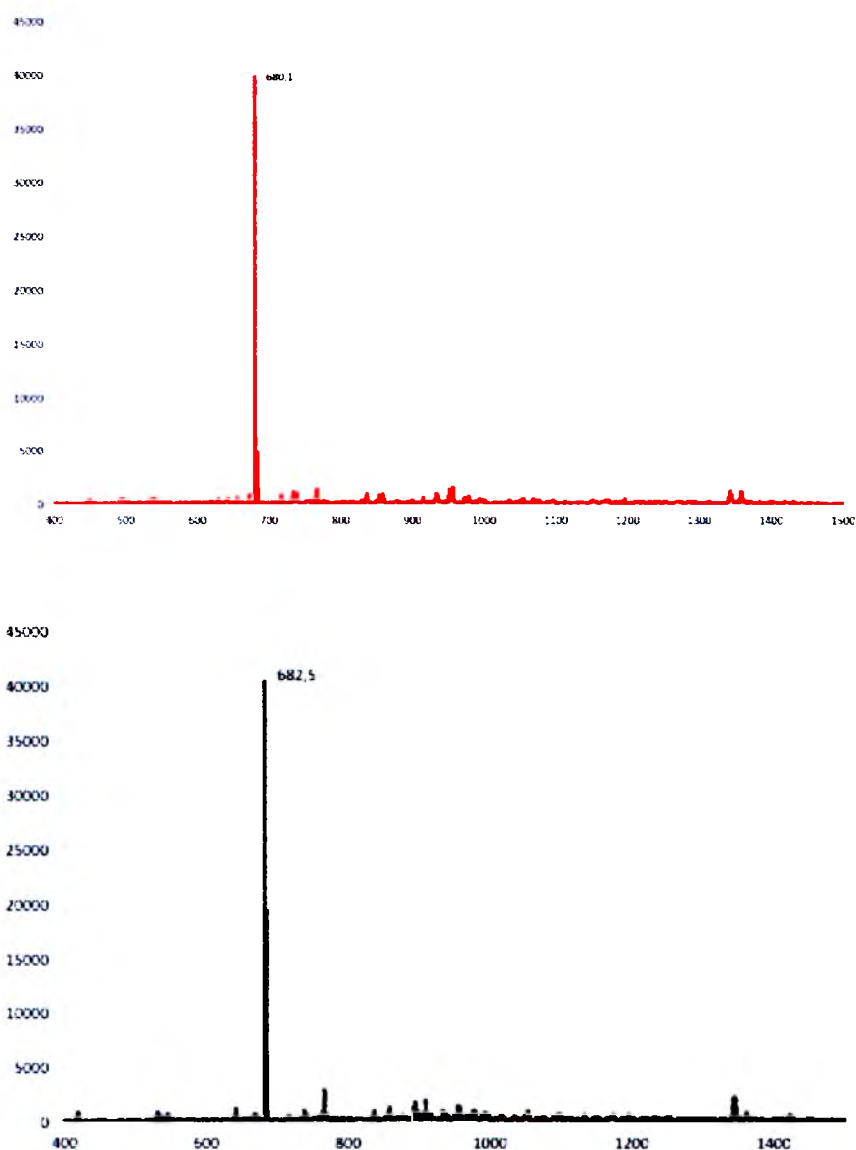
Rys. 4.1.12 Izomery związku Ch2

Zgodnie z oczekiwaniami w widmie absorpcyjnym obu związków zaobserwowano wzrost intensywności pasma przy około 650 nm. Również w widmie  $^1\text{H}$ NMR przesunięcie sygnałów protonów N-H do  $\delta$  równego około -1.6 ppm oraz pojawienie się sygnałów protonów zredukowanego pierścienia pirolowego przy około 4 ppm świadczą o powstaniu chloryn. Sygnały w zakresie od około 8.6 do 8.4 ppm pochodzące od protonów  $\beta$  występują jako multiplety. Obniżona symetria cząsteczki spowodowana obecnością podstawnika w pozycji 4 jednego z pierścieni fenylowych oraz możliwość powstawania dwóch izomerycznych chloryn jest powodem sprzężeń pomiędzy protonami  $\beta$ , które można zaobserwować w widmie COSY H-H. Pomimo trudności z interpretacją multipletowości sygnałów, ich integracja i zakres występowania są zgodne z oczekiwaniami. W widmie COSY widać również nakładanie się sygnałów przy około 4 ppm. Są to sygnały protonów zredukowanego pierścienia pirolowego oraz pierwszej od tlenu grupy  $\text{CH}_2$  łańcucha alkilowego.



Rys. 4.1.13 Widmo COSY H-H związku Ch2

W widmie MS różnice w masach pików molekularnych porfiryny i odpowiedniej chloryny wynoszą około 2 jednostki.

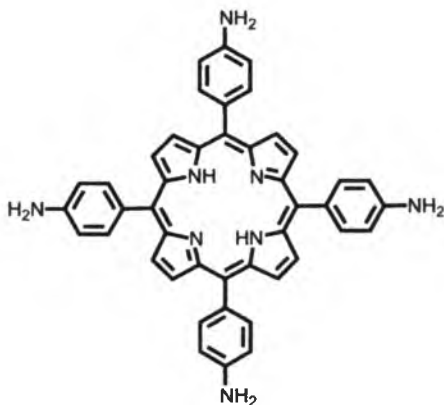


Rys. 4.1.14 Widmo ESI-MS związku P2 (czerwone) i Ch1 (czarne)

#### 4.1.4 Pochodne aminowe porfiryn

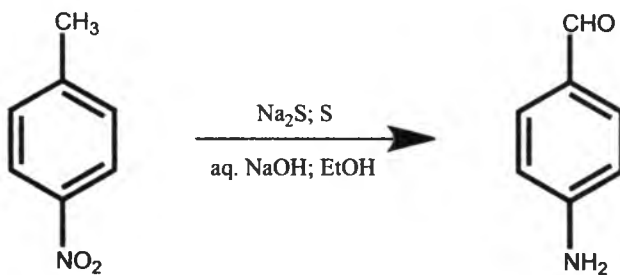
Poza pochodnymi hydroksylowymi również pochodne aminowe wydają się być ciekawą grupą związków o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej. Grupy aminowe można przeprowadzić w czwartorzędowe sole amoniowe, z czym związane jest polepszenie ich rozpuszczalności w środowisku wodnym. To z kolei stwarza możliwość transportu tych związków w warunkach jakie występują w komórkach.

W ramach przeprowadzonych syntez otrzymano tetra(4-aminofenylo)porfiryne (**P24**), którą następnie próbowano przeprowadzić w odpowiednią pochodną monoalkilową w reakcji z halogenkiem cetylu.

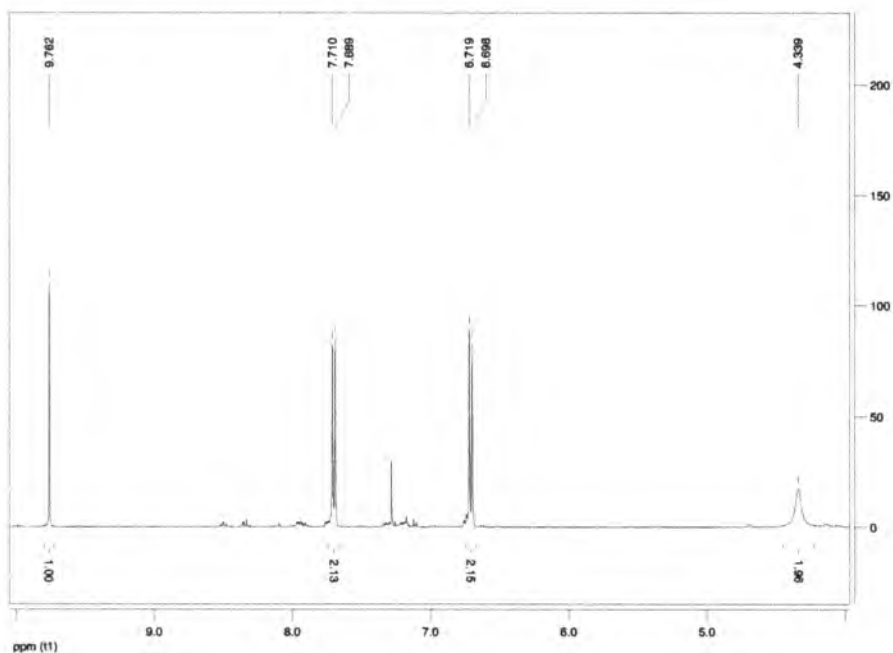


Rys. 4.1.15 Struktura związku **P24**

Niestety, podjęte próby nie doprowadziły do uzyskania pożądanego produktu. Wynikać to może z faktu, iż alkirowanie amin halogenkami alkilu jest niezbyt wygodną metodą na otrzymywanie amin pierwszo- lub drugorzędowych ze względu na dość dużą zasadowość produktu, który może reagować z kolejnymi cząsteczkami halogenku. Dodatkowo obecność kilku grup aminowych w porfirynie sprawia, że w reakcji otrzymuje się mieszaninę jej alkilowych pochodnych. Tradycyjnie związek **P24** otrzymuje się w reakcji redukcji tetra(4-nitrofenylo)porfiryryny za pomocą chlorku cyny (II) i kwasu solnego. W ramach pracy podjęto więc próbę otrzymania pochodnej **P24** w bezpośredniej syntezie Adlera – Longo wychodząc z odpowiedniego aldehydu. W tym celu zsyntezowano 4-aminobenzaldehyd (**Z3**) w reakcji jednoczesnego utlenienia i redukcji 4-nitrotolenu przebiegającej według równania prezentowanego poniżej.

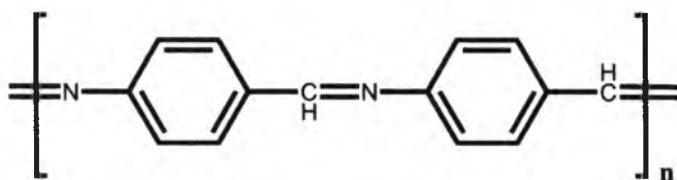


Rys. 4.1.16 Schemat syntezy związku **Z3**



Rys. 4.17 Widmo HNMR związku **Z3**

Z otrzymanego aldehydu próbowano otrzymać porfiryne **P24** w bezpośredniej syntezie z pirolem w kwasie propionowym. Niestety nie udało się otrzymać pożądanej porfiryny tym sposobem. Powodem tego jest duża reaktywność p-aminobenzaldehydu, który może reagować sam ze sobą. W wyniku takiej reakcji najprawdopodobniej powstaje poliimina.

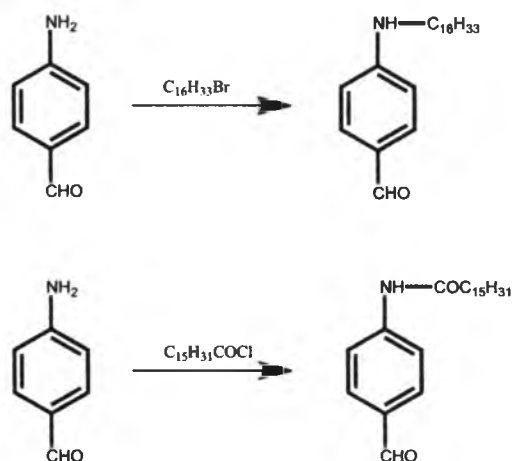


Rys. 4.1.18 Struktura poliiminy

Fakt dużej reaktywności, a więc i niestabilności p-aminobenzaldehydu, może tłumaczyć brak literaturowych doniesień na temat otrzymywania aminowych pochodnych tetrafenyloporfiryny w bezpośredniej syntezie, a także trudności z komercyjną dostępnością tego aldehydu.

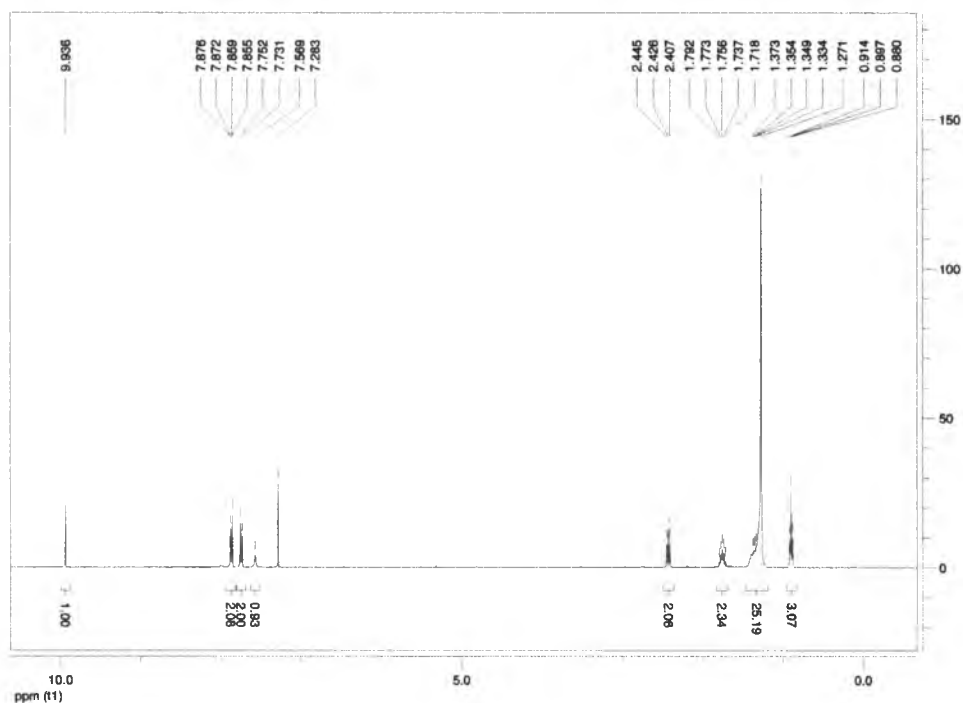
Pomimo niepowodzeń w bezpośredniej syntezie porfiryny ze związku **Z3** podjęto próby jego modyfikacji przeprowadzając jego reakcję z bromkiem cetylu i chlorkiem kwasu palmitynowego chcąc otrzymać związki prezentowane poniżej.





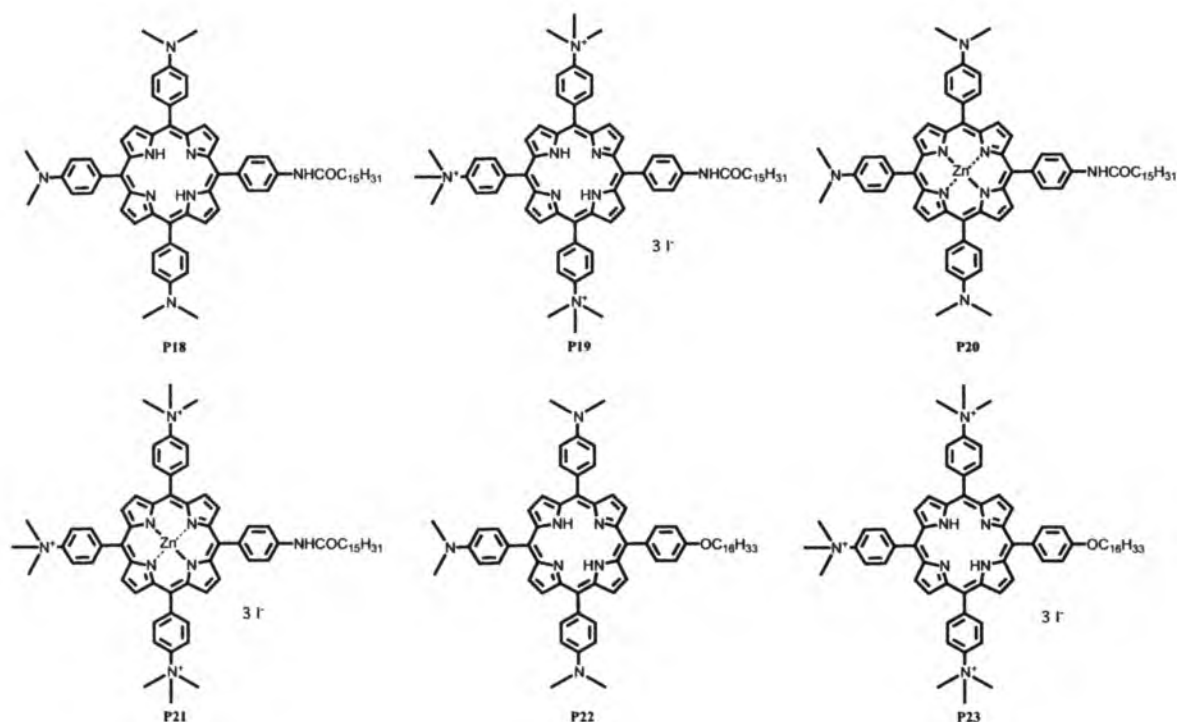
Rys. 4.1.19 Schemat syntezy pochodnych związku **Z3**

Reakcja z chlorkiem kwasu palmitynowego przebiegała z dobrą wydajnością w kierunku pożądanego produktu **Z4**, co udało się potwierdzić spektrometrią masową oraz magnetycznym rezonansem jądrowym. 4-Heksadecyloaminobenzaldehyd natomiast okazał się związkiem dość kłopotliwym do otrzymania. Związane to było z problemami zatrzymania reakcji na etapie aminy drugorzędowej. Powstająca amina drugorzędowa może również reagować między sobą dając enaminę. Udało się potwierdzić za pomocą spektrometrii mas obecność 4-heksadecyloaminobenzaldehydu w mieszaninie reakcyjnej, jednak kolejne próby jego otrzymania i wyizolowania nie zakończyły się powodzeniem. Można sądzić również, że 4-heksadecyloaminobenzaldehyd w reakcji sprzęgania z pirolem, w obecności kwasu, prawdopodobnie reagowałby ze sobą lub innymi obecnymi w środowisku aldehydami, uniemożliwiając powstanie porfiryny.



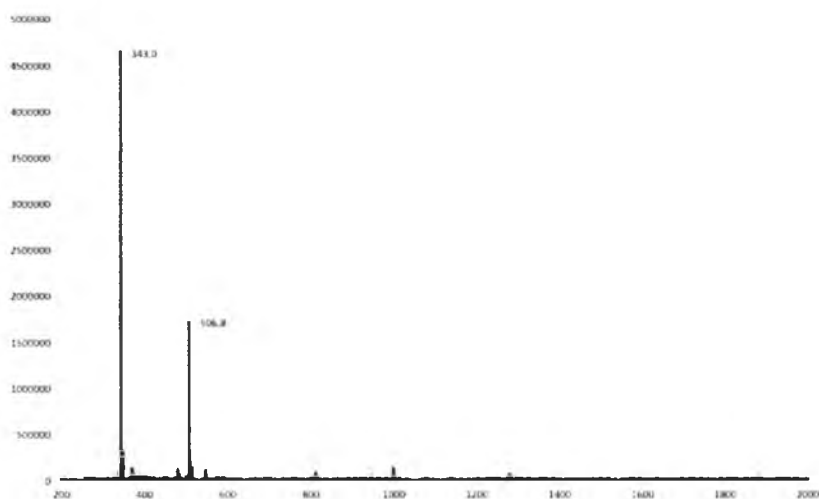
Rys. 4.1.20 Widmo HNMR związku **Z4**

Otrzymana pochodna amidowa **Z4** została wykorzystana do otrzymania porfiryny **P17** jak również **P18** w wyniku mieszanej syntezy „3 + 1”. Ponadto otrzymano jeszcze inne pochodne aminowe, których struktury przedstawiono poniżej.



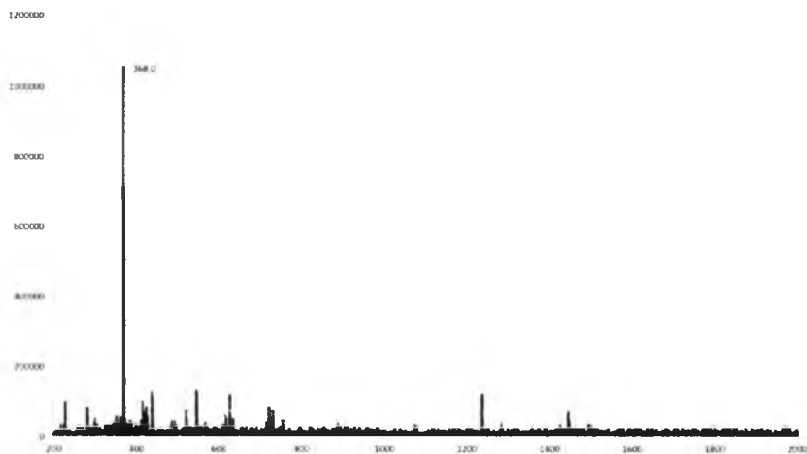
Rys. 4.1.21 Struktury związków **P18 – P23**

Kolejny etap syntez to czwartorzędowanie grup aminowych jodkiem metylu. Zabieg ten miał polepszyć rozpuszczalność związków w rozpuszczalnikach bardziej polarnych. Otrzymane związki rzeczywiście okazały się być dobrze rozpuszczalne w alkoholu metylowym, podczas gdy przed czwartorzędowaniem nie rozpuszczały się w tym rozpuszczalniku. Okazało się nawet, że otrzymane sole czwartorzędowe rozpuszczają się w wodzie. Czwartorzędowanie porfiryn nie metalizowanych prowadziło do otrzymania mieszaniny produktów, składającej się głównie z soli gdzie czwartorzędowane były trzy i dwie grupy aminowe. Ponieważ reakcję czwartorzędowania przeprowadzano w bardzo dużym nadmiarze jodku metylu istniała również możliwość czwartorzędowania atomów azotu wewnątrz pierścienia porfirynowego.



Rys. 4.1.22 Widmo ESI-MS związku **P23**

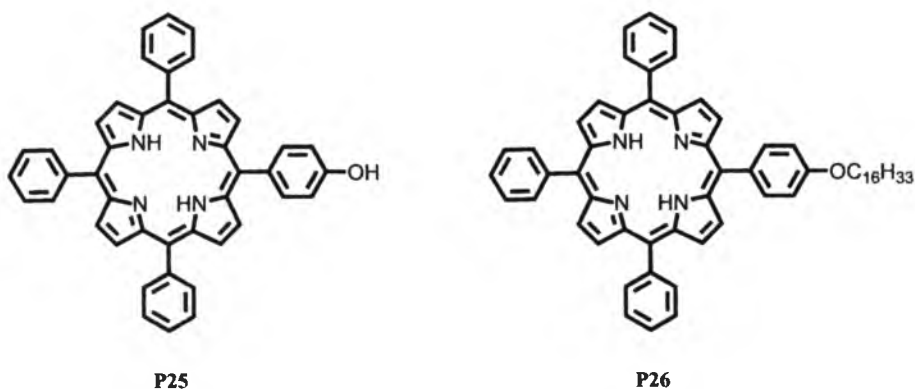
Można uniknąć czwartorzędowania atomów azotu wewnątrz pierścienia porfiryny wprowadzając metal do jej wnętrza. Widmo MS (Rys. 4.2.23) otrzymanej w ten sposób porfiryny **P21**, która jest cynkową pochodną związku **P19** sugeruje, że otrzymano właściwie wyłącznie całkowicie czwartorzędowaną pochodną.



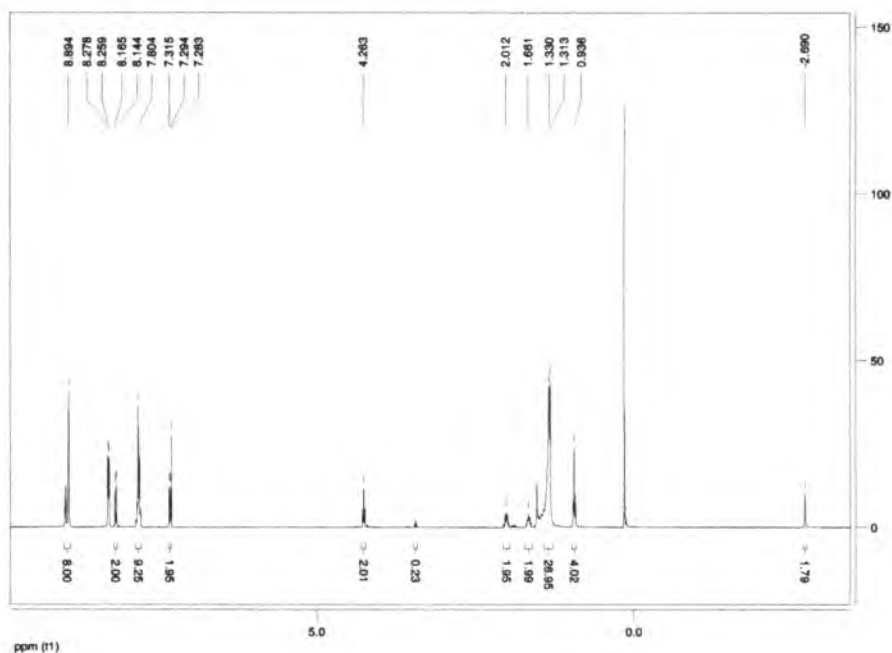
Rys. 4.1.23 Widmo ESI-MS związku **P21**

#### 4.1.5 Pozostałe syntez

W ramach pozostałych syntez otrzymano porfiryny **P25** i **P26**, z których ostatnia została poddana próbie sulfonowania. Wprowadzenie grup sulfonowych do pierścieni fenylowych, podobnie jak w przypadku soli amoniowych miało na celu zwiększenie rozpuszczalności w rozpuszczalnikach polarnych, a szczególnie w wodzie.



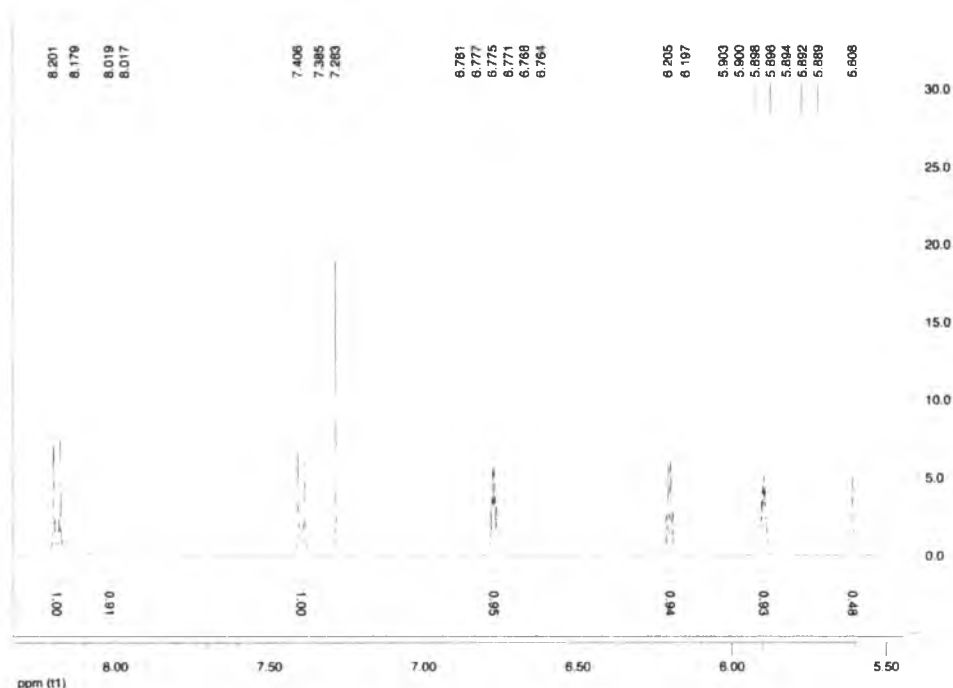
Rys. 4.1.24 Struktury związków **P25** i **P26**



Rys. 4.1.25 Widmo HNMR związku **P26**

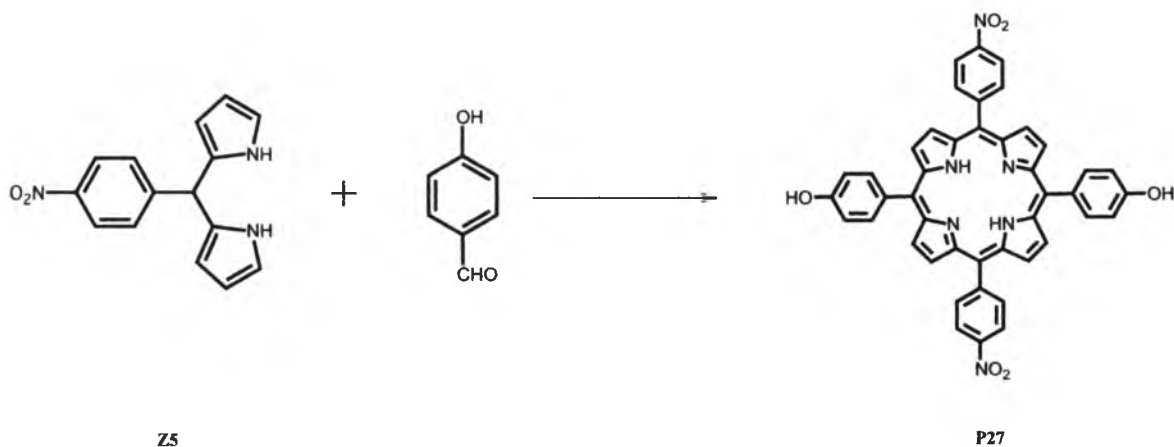
W wyniku sulfonowania **P26** otrzymano związek, który bardzo dobrze rozpuszczał się w wodzie i posiadał widmo absorpcyjne charakterystyczne dla porfiryn. W żaden jednak sposób nie udało się potwierdzić dokładnej struktury powstałej sulfonowej porfiryny. Otrzymywanie i próby określenia struktur tego typu związków mogą okazać się interesującymi, ze względu na spodziewaną amfifilowość powstałych produktów. Z tego powodu podjęte w ramach pracy próby powinny być dalej rozwijane.

Pośród różnych metod syntez porfiryn na uwagę zasługuje reakcja z wykorzystaniem dipirometanów. Metoda ta wydaje się wygodną drogą do otrzymywania porfiryn z różnymi podstawnikami w pozycjach *meso*. W pracy otrzymano porfiryne **P27** w wyniku syntezy 5-(4-nitrofenylo)dipirometanu (**Z5**) z 4-hydroksybenzaldehydem.



Rys. 4.1.26 Widmo  $^1\text{H}$  NMR **Z5**

Otrzymany związek posiada takie same podstawniki w pozycjach [5,15] oraz [10,20]. Związki posiadające podstawniki w takim układzie otrzymuje się trudno innymi metodami, a mogą one być ciekawe ze względu na możliwość ich modyfikacji w dwóch różnych kierunkach. Struktury związku **P27** nie udało się potwierdzić za pomocą magnetycznego rezonansu jądrowego. W widmie masowym obserwuje się obecność jednego piksu o spodziewanej masie ( $m/z = 737,4$ ). Również widmo absorpcyjne otrzymanego związku ma kształt charakterystyczny dla porfiryn. Mimo tego nie można jednoznacznie stwierdzić, że ma się do czynienia z izomerem [5,15], ze względu na możliwe przegrupowania podczas powstawania pierścienia porfiryнового, w wyniku którego może powstawać również izomer [5,10].<sup>113</sup>

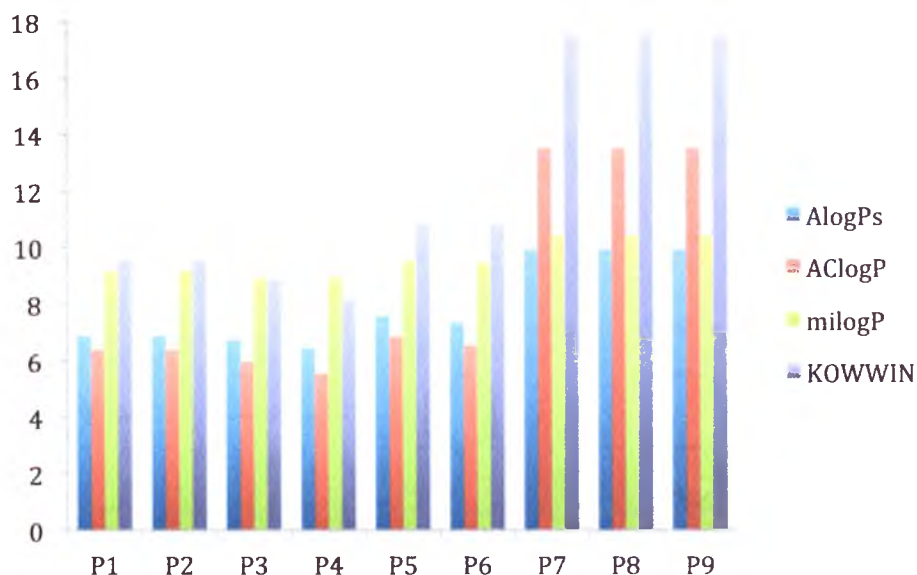


Rys. 4.1.27 Schemat syntezy związku **P27**

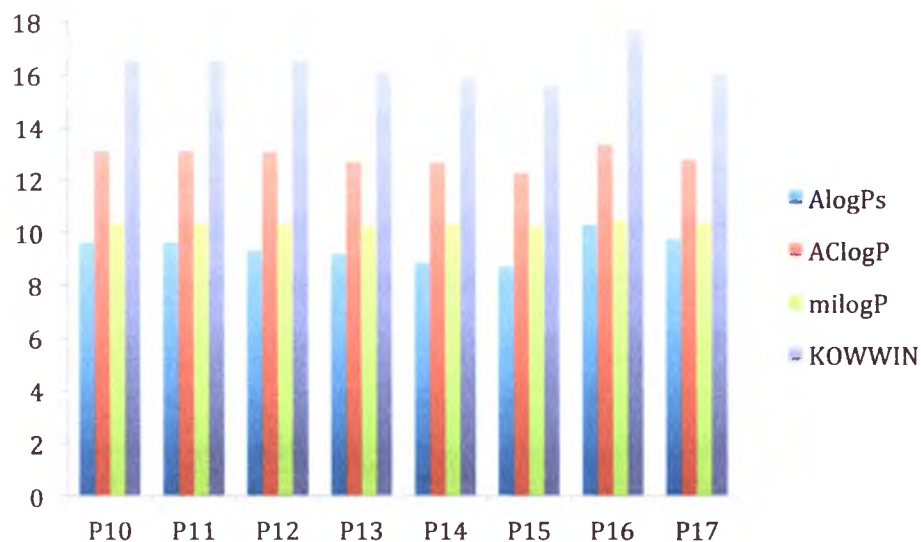
## 4.2 Lipofilowość otrzymanych związków

Lipofilowość jest ważnym parametrem pozwalającym przewidywać aktywność biologiczną czy kumulację leku w organizmie, w szczególności jego wnikanie w błony komórkowe. Dla związków organicznych często wyrażana jest ona jako współczynnik podziału ( $P$  lub  $\log P$ ) pomiędzy fazą organiczną (oktanol) a wodną.<sup>114-117</sup> W pracy wyznaczono  $\log P$  dla szeregu otrzymanych monopodstawionych pochodnych porfiryńowych. Eksperymentalny  $\log P$  został wyznaczony za pomocą chromatografii cienkowarstwowej z odwróconą fazą z uwzględnieniem współczynników retencji chromatografowanych związków oraz za pomocą  $\log P_{\text{Rekker}}$ , który został obliczony na podstawie stałych fragmentacyjnych podanych w literaturze.<sup>118-119</sup> Ponadto w pracy zostały obliczone  $\log P$  dla badanych związków za pomocą ogólnodostępnego oprogramowania metodami AlogPs, AclogP, milogP, KowWin.<sup>120</sup> Chromatografia cienkowarstwowa, jako alternatywa dla tradycyjnej metody *shake-flask*, jest szybką i wygodną metodą wyznaczania lipofilowości.

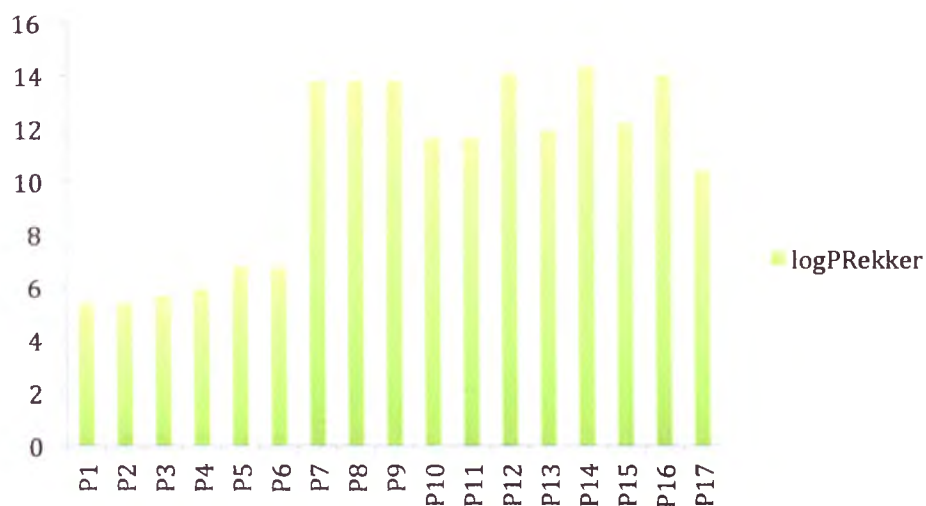
Na rysunkach (Rys. 4.2.1 i 4.2.2) przedstawiono wyniki obliczonych teoretycznie logarytmów  $P$ . Jak można zaobserwować w zależności od zastosowanej metody wartości te mogą znacznie się różnić, co spowodowane jest zastosowaniem różnych algorytmów w każdej z metod.<sup>121-122</sup>



Rys. 4.2.1 Porównanie wartości AlogPs, AclogP, milogP, KOWWIN dla związków P1 – P9



Rys. 4.2.2 Porównanie wartości AlogPs, AclogP, milogP, KOWWIN dla związków **P10 – P17**



Rys. 4.2.3 Porównanie wartości  $\log P_{\text{Rekker}}$  dla związków **P1 – P17**

Rysunek 4.2.3 przedstawia wartości  $\log P_{\text{Rekker}}$  obliczone zgodnie z zaproponowaną przez Rekkera metodą stałych fragmentacyjnych według równania<sup>118-119</sup>:

$$\log P_{\text{Rekker}} = \sum_{1}^n a_n f_n$$

gdzie  $f$  to stała reprezentująca lipofilowość określonego fragmentu strukturalnego, a  $a$  określa ile razy dany fragment powtarza się w molekuale. Zauważyć można, że metody

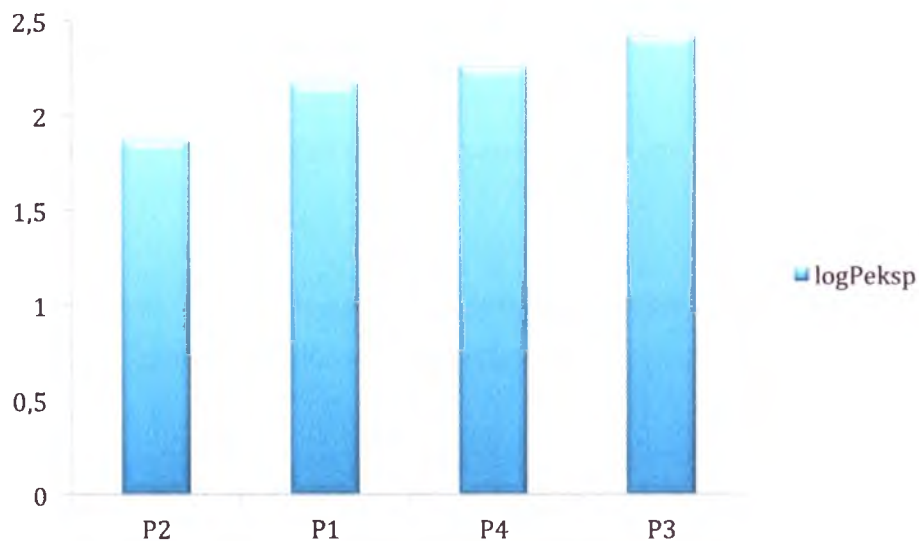


teoretyczne dają tę samą wartość logP dla izomerów (**P1**, **P2** lub **P7**, **P8**, **P9**), jednak różne współczynniki  $R_F$  dla poszczególnych związków wskazują na różnice w lipofilowości zatem, co można było przewidzieć, położenie podstawników wpływa na charakter związku.

Do wyznaczenia  $\log P_{\text{eksp}}$  użyto logarytmu Rekkera oraz wartości współczynników  $R_F$  otrzymane dla dwóch różnych układów faz ruchomych.  $\log P_{\text{eksp}}$  obliczono według równania<sup>123</sup>:

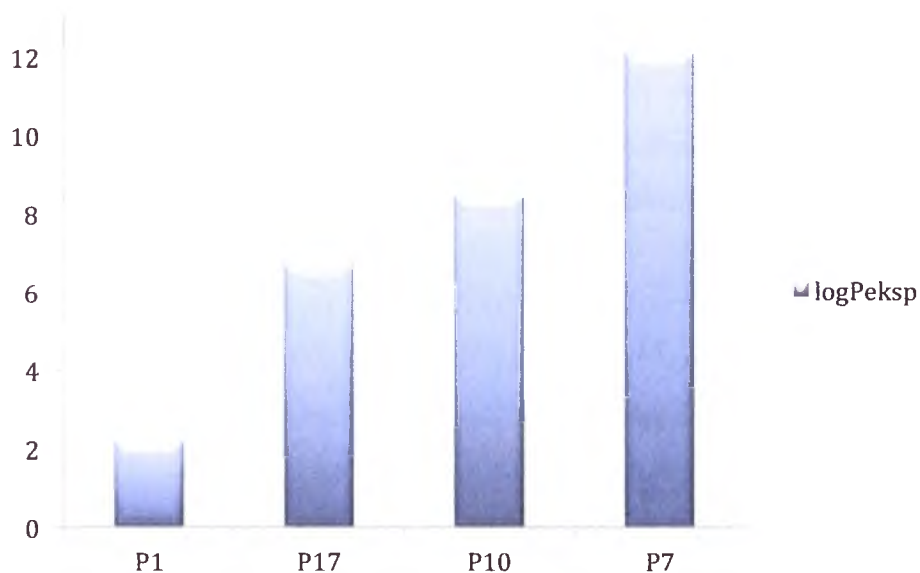
$$\log P_{\text{eksp}} = \frac{\log P_{\text{Rekker}}}{2(R_{F_1} + R_{F_2})}$$

gdzie  $R_{F_1}$  i  $R_{F_2}$  to współczynniki retencji odpowiednio dla metanolu i mieszaniny metanolu z chloroformem (8:2 v/v) jako fazy ruchomej. Wyniki eksperymentu przedstawiono na rysunkach 4.2.4 – 4.2.9. Rys. 4.2.4 ilustruje wartości wyznaczonych logP dla niepodstawionych pochodnych tetrafenyloporfiry. Widać, że pojawienie się dodatkowych grup metoksyowych w pierścieniu fenylowym powoduje nieznaczny wzrost lipofilowości związku (literaturowe wartości logP dla związków **P1**, **P2**, **P3** wynoszą odpowiednio 1,7; 1,8 i 1,9).<sup>124</sup>

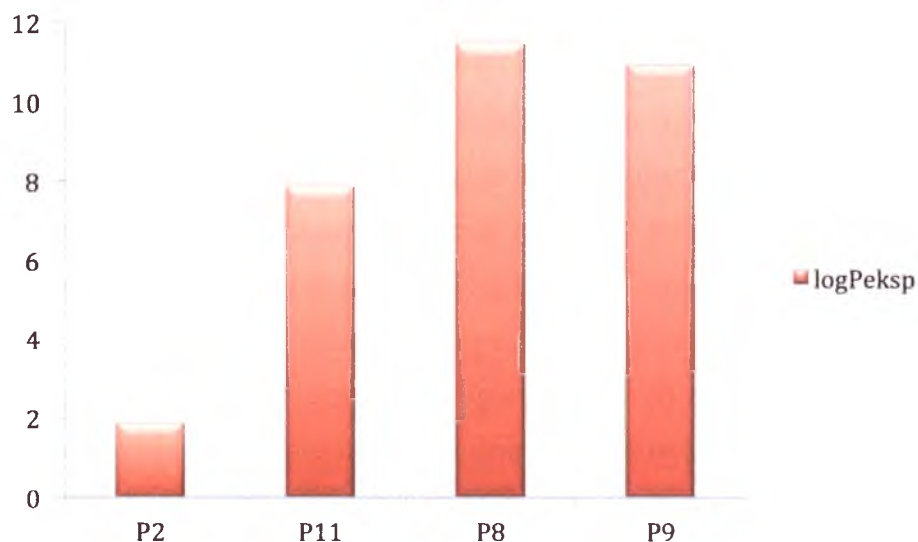


Rys. 4.2.4 Porównanie wartości  $\log P_{\text{eksp}}$  dla związków **P1** – **P4**

Rys. 4.2.5 i Rys. 4.2.6 przedstawiają wartości  $\log P$  dla pochodnych tetrahydroksyfenyloporfiryryny z grupami hydroksylowymi w pierścieniu fenylowym w pozycji *meta* i *para* wraz z przyłączonymi poprzez wiązanie eterowe, estrowe lub amidowe łańcuchami zawierającymi 16 atomów węgla. Obserwujemy tutaj wyraźny wzrost lipofilowości wraz z pojawieniem się hydrofobowego łańcucha. Widać również, że obecność wiązania estrowego lub amidowego przez które przyłączony jest łańcuch wpływa na obniżenie lipofilowości związku w porównaniu z wiązaniem eterowym. Niewielki wpływ na wartość  $\log P_{\text{eksp}}$  ma miejsce (*meta* – *para*) przyłączenia długiego łańcucha węglowego zarówno przez wiązanie eterowe, estrowe jak i amidowe.

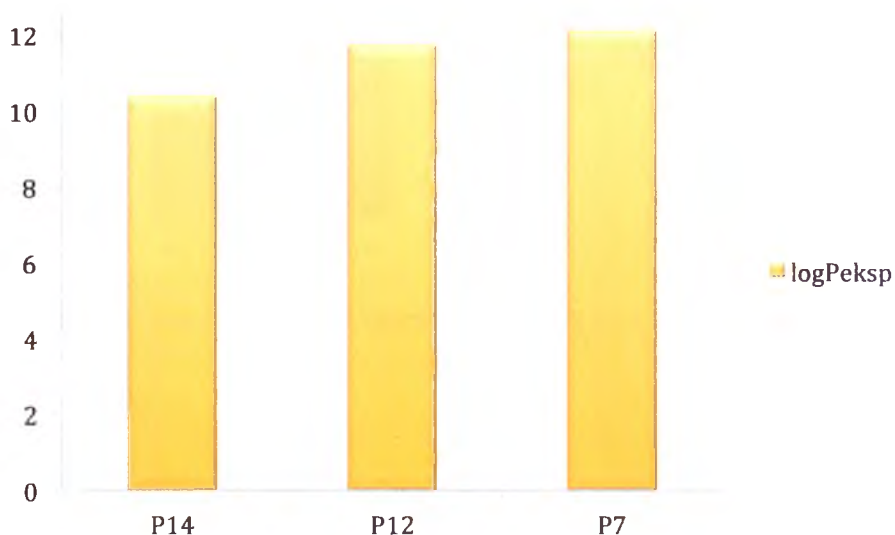


Rys. 4.2.5 Porównanie wartości  $\log P_{\text{eksp}}$  dla związków **P1**, **P7**, **P10** i **P17**

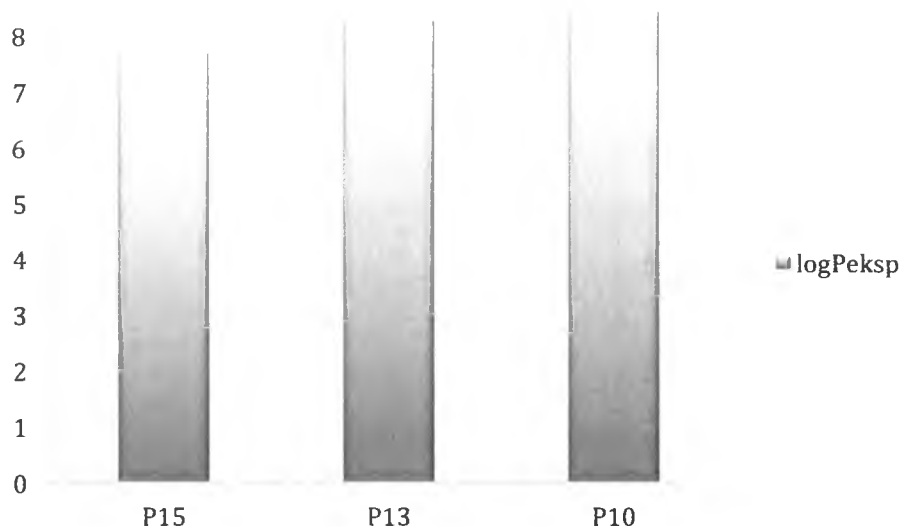


Rys. 4.2.6 Porównanie wartości logP<sub>eksp</sub> dla związków **P2**, **P8**, **P9** i **P11**

Na kolejnych rysunkach (Rys. 4.2.7 i 4.2.8) pokazano, że obecność dodatkowych grup metoksyowych w pierścieniu fenyłowym porfiryny wpływa nieznacznie na zmianę lipofilowości związków. Znacznie większy wpływ na lipofilowość ma rodzaj wiązania, przez które przyłączony jest łańcuch alkilowy do cząsteczki tetrafenyloporfiryny.

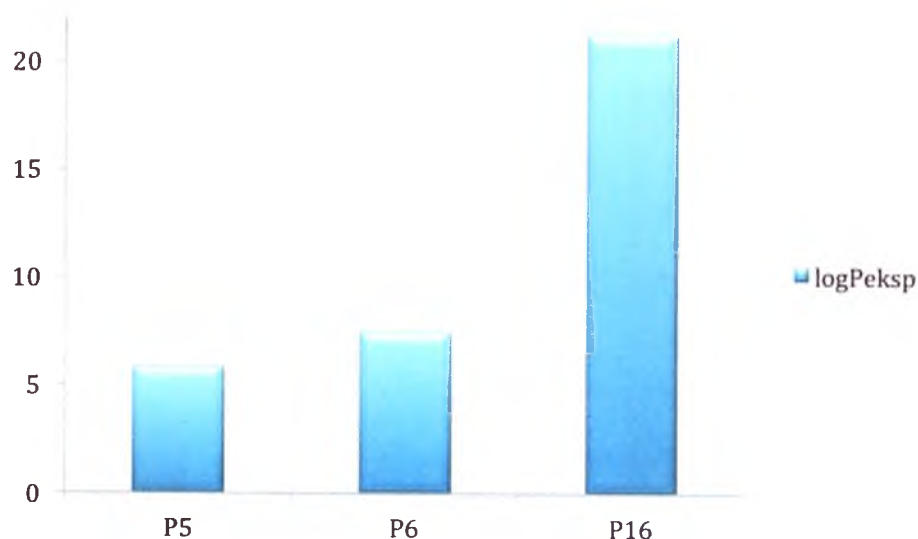


Rys. 4.2.7 Porównanie wartości logP<sub>eksp</sub> dla związków **P7**, **P12** i **P14**



Rys. 4.2.8 Porównanie wartości  $\log P_{\text{eksp}}$  dla związków **P10**, **P13** i **P15**

Na rysunku 4.2.9 przedstawiono zmianę lipofilowości związków, w których nie ma niezabezpieczonych grup hydroksylowych. Brak hydrofilowych fragmentów, poza grupą aminową czy acetamidową, w pierścieniu fenylowym powoduje wzrost wartości  $\log P$  niepodstawionych łańcuchem alkilowym związków. Przyłączenie łańcucha sprawia, że związek **P16** jest najbardziej lipofilowy z badanej w tej pracy grupy porfiryn. W tabeli 4.2.1 przedstawiono wartości obliczonych metodami AlogPs, AclogP, milogP, KowWin,  $\log P_{\text{Rekker}}$  oraz eksperymentalnego  $\log P$ . Pomimo różnic w wartościach teoretycznych  $\log P$ , można zauważyć, że bez względu na zastosowaną metodę obliczeniową trend w każdej z metod jest taki sam. Metody teoretyczne zazwyczaj tak samo traktują izomery związków, co widoczne jest w tabeli 4.2.1. Czynnikiem różnicującym dwa lub kilka izomerów jest współczynnik  $R_F$ .



Rys. 4.2.9 Porównanie wartości  $\log P_{\text{eksp}}$  dla związków **P5**, **P6** i **P16**

W badanych warunkach chromatograficznych nie udało się wyznaczyć  $\log P$  aminowych pochodnych tetrafenyloporfiryry oraz ich czwartorzędowych soli (**P18** – **P24**). Nie obserwowano retencji związków na płytkach chromatograficznych. Wynikać to może z oddziaływań wodorowych czy jonowych jakie mogą występować pomiędzy tymi związkami a fazą stacjonarną.

W pracy pokazano wpływ obecności łańcucha alkilowego w pochodnych tetrafenyloporfiryry na lipofilowość związku. Otrzymywanie związków o wyważonych właściwościach hydrofobowo-hydrofilowych stwarza możliwość umieszczania ich w układach podobnych do naturalnych błon biologicznych, co z kolei wydaje się być interesującą metodą dostarczania związku do organizmu. Pokazano wpływ obecności różnych wiązań pomiędzy szkieletem tetrafenyloporfiryry a fragmentem hydrofobowym na właściwości lipofilowe badanych związków, co może mieć kluczowe znaczenie przy ich transporcie za pomocą micelli czy liposomów w układach biologicznych. Znajomość lipofilowości badanych związków może okazać się pomocna w dalszych badaniach nad potencjalnym ich zastosowaniem w terapii fotodynamicznej lub innych gałęziach medycyny. Związki **P1** i **P2** były wcześniej badane biologicznie, a wyniki tych badań zostały opisane w literaturze.<sup>62</sup>

logP Związek	AlogPs	AClogP	milogP	KOW WIN	logP <sub>Rekker</sub>	logP <sub>eksp</sub>
P1	6,88	6,38	9,17	9,54	3,64	1,47
P2	6,88	6,38	9,17	9,54	3,64	1,26
P3	6,74	5,96	8,91	8,84	3,92	1,68
P4	6,43	5,54	8,94	8,14	4,19	1,52
P5	7,57	6,86	9,51	10,81	5,04	4,34
P6	7,35	6,53	9,48	10,78	4,97	5,52
P7	9,94	13,5	10,42	17,47	12,05	10,57
P8	9,94	13,5	10,42	17,47	12,05	9,56
P9	9,94	13,5	10,42	17,47	12,05	10,04
P10	9,62	13,1	10,35	16,49	9,9	7,17
P11	9,62	13,1	10,35	16,49	9,9	6,69
P12	9,33	13,08	10,33	16,51	12,33	10,28
P13	9,18	12,68	10,26	16,05	10,18	7,07
P14	8,86	12,66	10,34	15,85	12,6	9,13
P15	8,7	12,26	10,26	15,61	10,45	6,61
P16	10,29	13,36	10,48	17,69	12,3	18,64
P17	9,76	12,78	10,37	16	10,42	6,68

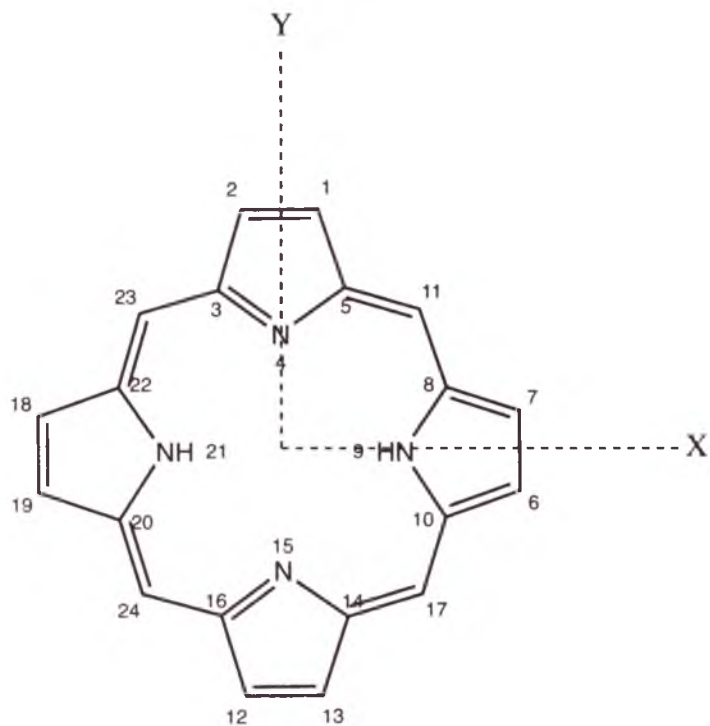
Tabela 4.2.1 Wartości otrzymanych teoretycznych i eksperymentalnego logP

### 4.3 Spektroskopia absorpcyjna

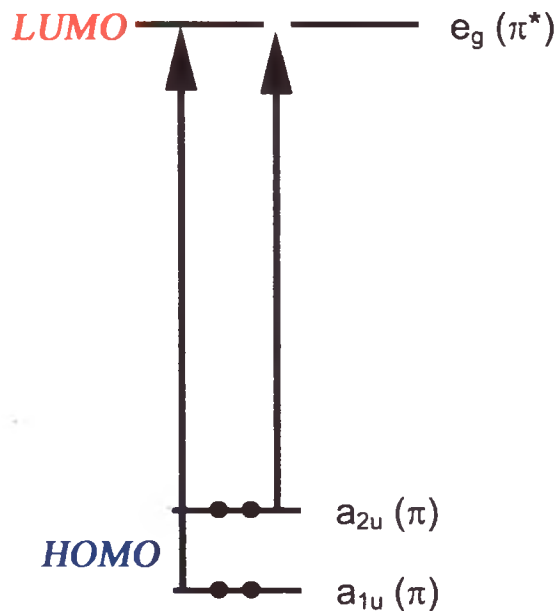
Dzięki możliwości oddziaływania materii z promieniowaniem elektromagnetycznym w otaczającym nas świecie mogą zachodzić różne procesy. W wyniku takiego oddziaływania pojedyncze atomy lub cząsteczki przechodzą na wyższe poziomy energetyczne. Wśród wzbudzonych stanów energetycznych cząsteczek wyróżniamy stany translacyjne, rotacyjne, oscylacyjne oraz elektronowe. Porfiryny i ich pochodne mają bardzo charakterystyczne widma w zakresie światła widzialnego, a energia promieniowania z tego zakresu odpowiada energii przejść pomiędzy stanami elektronowymi molekuł. Stąd szczególne zainteresowanie spektroskopią elektronową w badaniach nad tego typu związkami.

Jak już wspomniano porfiryny absorbują promieniowanie z zakresu światła widzialnego, a w ich widmie możemy wyróżnić dwa charakterystyczne obszary. Pierwszy z nich to pasmo Soreta występujące przy długości fali około 420 nm, posiadające molowy współczynnik absorpcji na poziomie  $10^5$ - $10^6$ . Drugi obszar to tzw. pasma Q występujące w zakresie od 500 – 700 nm, których molowy współczynnik absorpcji jest około dwa rzędy niższy od molowego współczynnika absorpcji pasma Soreta. W praktyce zazwyczaj występują cztery pasma Q, które w przypadku porfiryny zmetalizowanej oraz występującej w postaci dwuanionu lub dwukationu zredukowane są do dwóch. Zrozumienie mechanizmów rządzących przejściami elektronowymi w tego typu związkach wydaje się być istotnym zagadnieniem ze względu na możliwości ich potencjalnych zastosowań. Najpopularniejszą dotychczas teorią opisującą widma porfiryn i ich pochodnych jest model czterech orbitali zaproponowany w 1961 roku przez Goutermana.<sup>125-126</sup> Według Goutermana widma absorpcyjne porfiryn i ich pochodnych można wyjaśnić analizując przejścia pomiędzy dwoma orbitalami HOMO i dwoma LUMO. W przypadku tego typu związków za pasma obserwowane w zakresie światła widzialnego odpowiadają przejścia  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Analizując widma porfiryn warto zacząć od porfiryny zmetalizowanej, która charakteryzuje się wyższą symetrią  $D_{4h}$ . W widmie metaloporfiryny występują tylko dwa pasma Q, pomiędzy którymi przerwa energetyczna jest stała. Sugeruje to, że nie są to różne przejścia elektronowe, tylko przejścia do różnych stanów oscylacyjnych stanu wzbudzonego (0-0 oraz 0-1). Przejścia  $\pi \rightarrow \pi^*$  metaloporfiryny mają symetrię  $E_u$  i składają się z dwóch równoważnych przejść dipolowych w kierunkach x i y (Rys. 4.3.1). Energetycznie najwyżej obsadzone orbitale

molekularne (HOMO) metaloporfiryny mają symetrię  $a_{2u}$  i  $a_{1u}$ , natomiast energetycznie najniżej nieobsadzone orbitale (LUMO) mają symetrię  $e_g$  (Rys. 4.3.2).



Rys. 4.3.1 Pierścień porfiny z osiami symetrii

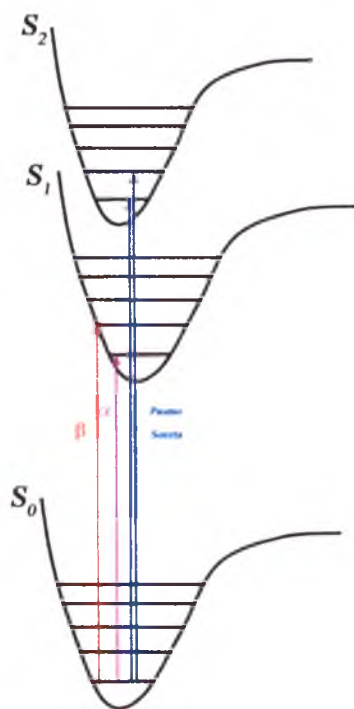


Rys. 4.3.2 Diagram orbitali molekularnych metaloporfiryny



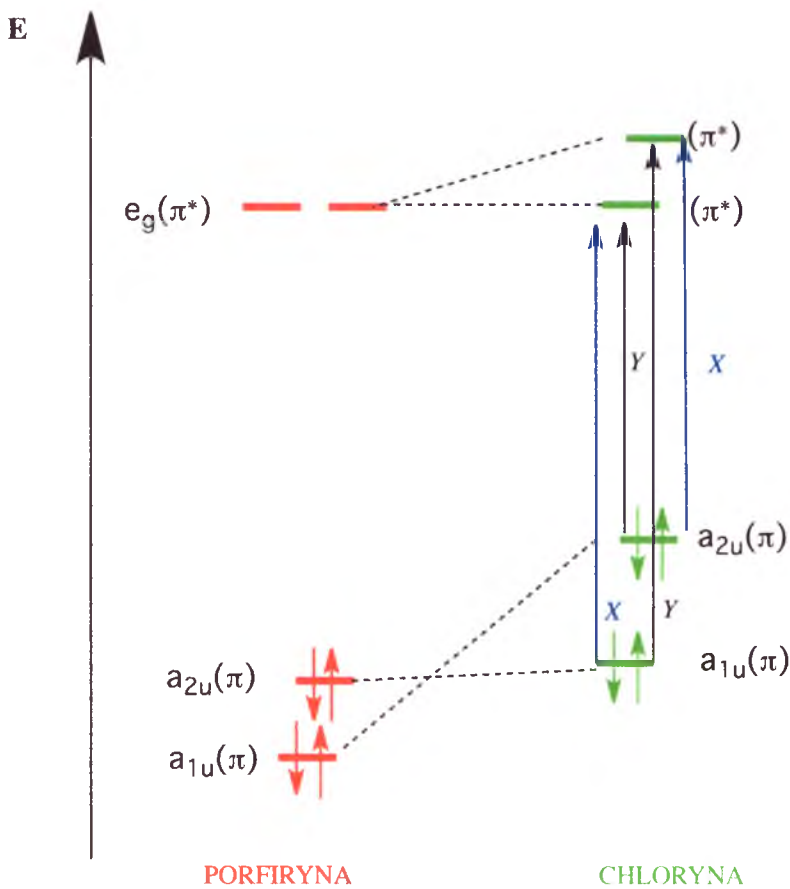
Z obliczeń kwantomechanicznych wynika, że orbital  $a_{2u}$  posiada wyższą energię niż orbital  $a_{1u}$ , dlatego przejścia  $a_{2u} \rightarrow e_g$  klasyfikowane są jako odpowiedzialne za powstawanie pasm Q, natomiast przejścia  $a_{1u} \rightarrow e_g$  odpowiadają za powstawanie pasma Soreta. Przedstawione rozważania tłumaczą zakres występowania poszczególnych pasm, natomiast w żaden sposób nie tłumaczą różnic w ich intensywnościach. Dla wytłumaczenia tego zjawiska trzeba założyć przypadkową degenerację stanów HOMO. Znaczną intensywność pasma Soreta ( $S_0 \rightarrow S_2$ ) tłumaczy się tym, że przejście  $a_{1u} \rightarrow e_g$  jest silnie dozwolone. Przejście  $a_{2u} \rightarrow e_g$  natomiast jest również przejściem dozwolonym, ale w mniejszym stopniu, dlatego pasmo Q ( $S_0 \rightarrow S_1$ ) jest mniej intensywne.

Usunięcie z wnętrza porfiryny metalu sprawia, że symetria związku zostaje zredukowana do  $D_{2h}$ . To z kolei sprawia, że osie x i y (Rys. 4.3.1) przestają być równoważne, czego konsekwencją jest rozszczepienie pasm Q. Pojawiają się dwa różne przejścia elektronowe  $Q_x$  i  $Q_y$ . Ponieważ w paśmie Q poza przejściami do zerowego oscylacyjnego stanu wzbudzonego (0-0) występują przejścia do stanów oscylacyjnych (0-1) w widmie obserwujemy pojawienie się czterech gałęzi.



Rys. 4.3.3 Przejścia elektronowe odpowiedzialne za powstawanie pasma Soreta i pasm Q

W przypadku redukcji jednego wiązania podwójnego pierścienia pirolowego porfiryny otrzymujemy chlorynę. Konsekwencje takiej redukcji można obserwować w widmie absorpcyjnym związku. W porównaniu z porfirynami chloryny cechuje duży wzrost intensywności pasma występującego przy około 650 nm.



Rys. 4.3.4 Diagram energetyczny orbitali molekularnych porfiryny i chloryny

Analizując diagram energetyczny orbitali molekularnych chloryny można zauważyć, że przejścia spolaryzowane wzdłuż osi x mają podobną energię i są one odpowiedzialne za pojawianie się pasm podobnych jak w porfirynie. Energia przejść spolaryzowanych wzdłuż osi y z kolei różni się znacznie, a konsekwencją tego jest pojawienie się silnego pasma w zakresie widzialnym widma.

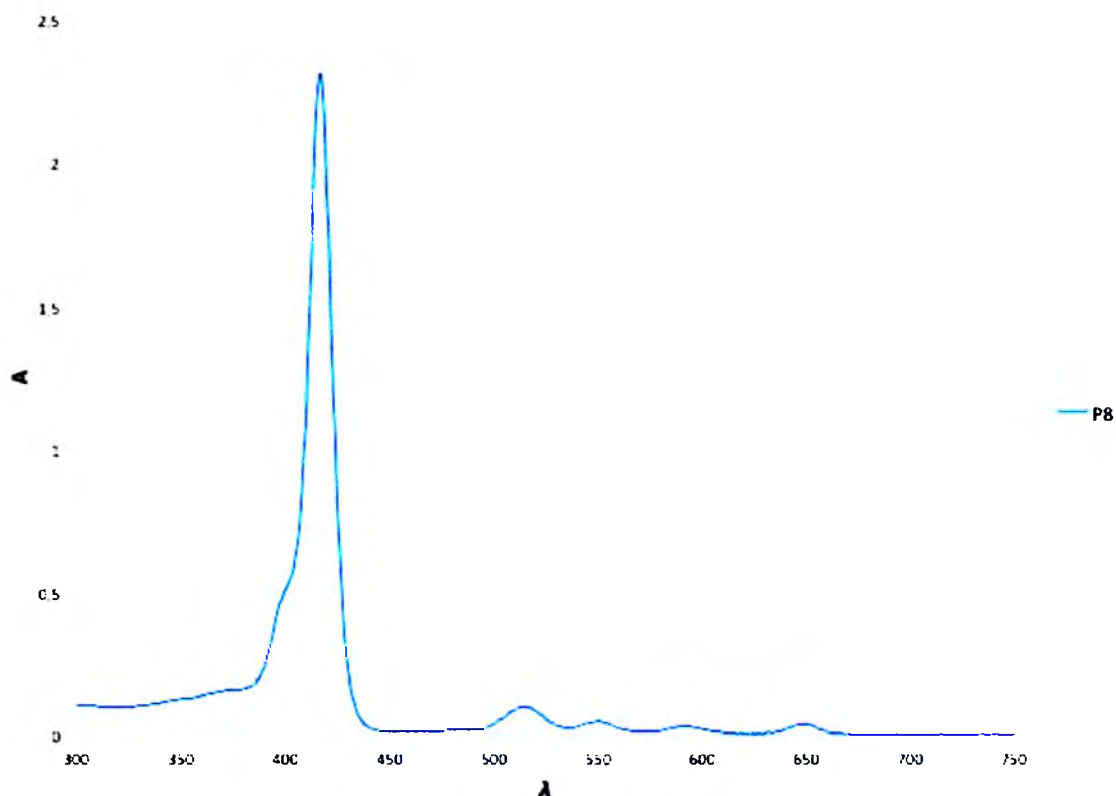
W ramach pracy wykonano widma absorpcyjne otrzymanych porfiryn i chloryn oraz na ich podstawie wyznaczono molowe współczynniki absorpcji, korzystając z zależności:

$$A = \epsilon lc$$

gdzie  $A$  to absorbancja danego roztworu związku,  $l$  droga optyczna jaką musiała przejść wiązka promieniowania,  $c$  stężenie molowe związku, a  $\epsilon$  to molowy współczynnik absorpcji.

#### 4.3.1 Widma absorpcyjne pochodnych hydroksylowych porfiryn i chloryn

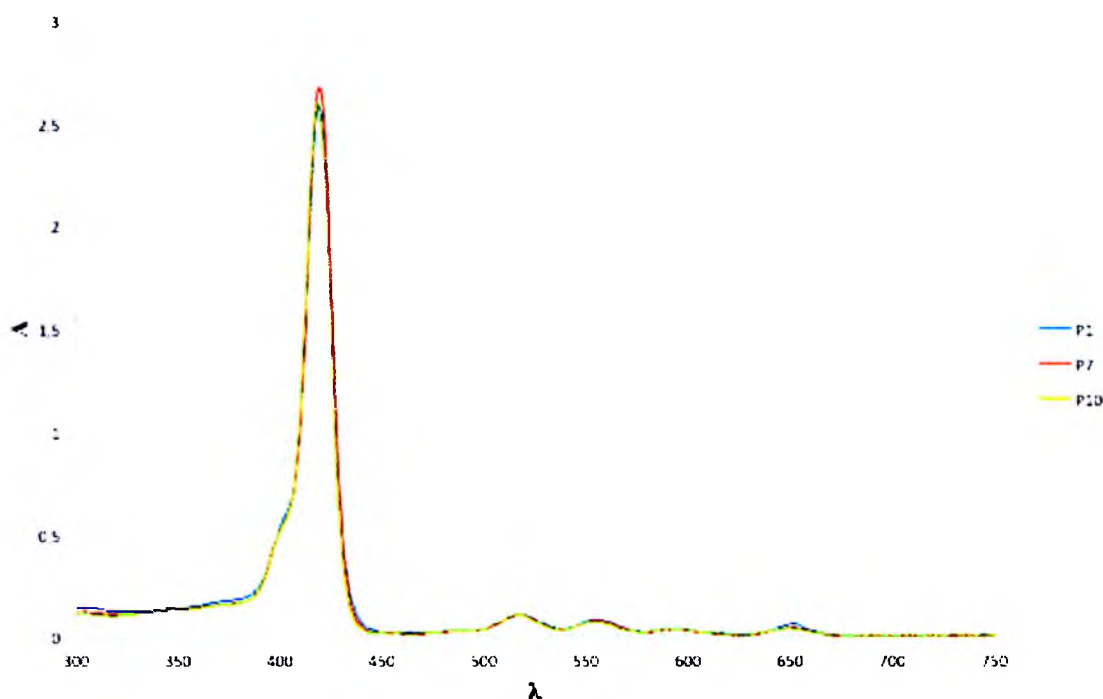
Poniższe rysunki ilustrują przykładowe widma absorpcyjne zarejestrowane dla otrzymanych związków. Rysunek 4.3.5 przedstawia widmo typowe dla porfiryn z intensywnym pasmem Soreta oraz czterema pasmami Q w zakresie światła widzialnego.



Rys. 4.3.5 Widmo absorpcyjne związku P8

Kolejny rysunek (Rys. 4.3.6) przedstawia porównanie widm związków z przyłączonymi łańcuchami poprzez wiązanie eterowe (P7), estrowe (P10) oraz związku niepodstawionego (P1). Z porównania wynika, że na kształt widma nie mają wpływu podstawniki przyłączone do pierścieni fenyłowych, ani rodzaj wiązań, przez które to przyłączenie następuje. Ponadto nie zaobserwowano zmian w widmach izomerów (np. P7 i P9).

Świadczy to o tym, że tylko pierścień tetrapiolowy odpowiedzialny jest za charakterystyczne właściwości absorpcyjne porfiryn i ich pochodnych.

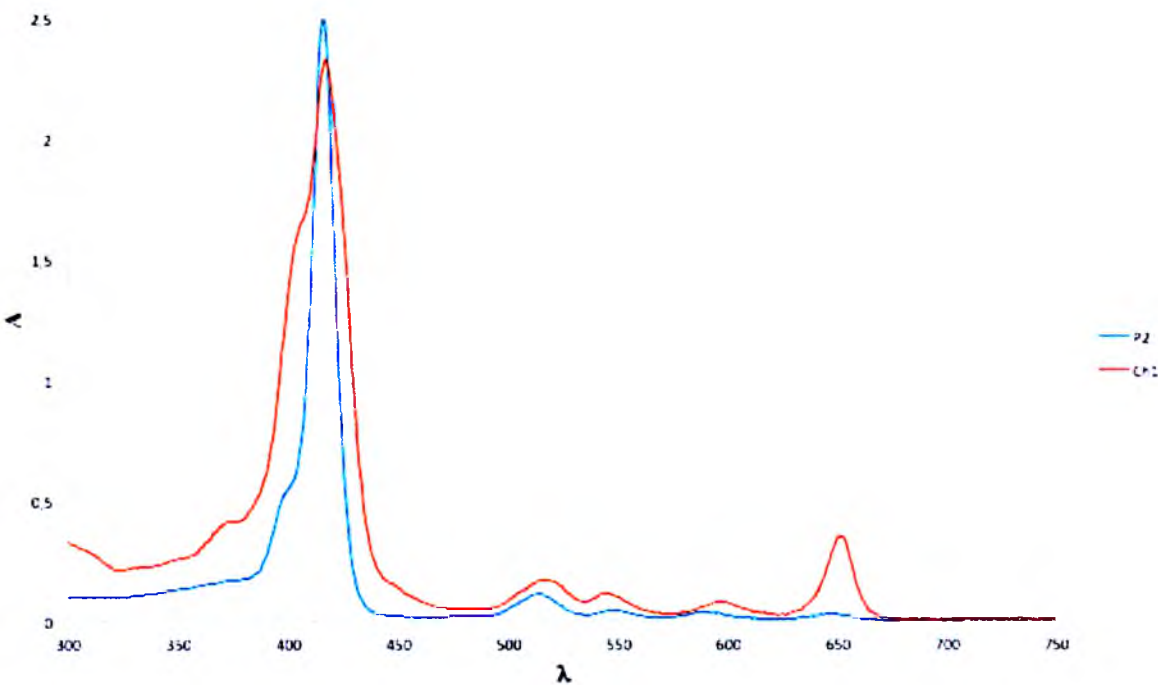


Rys. 4.3.6 Porównania widm absorpcyjnych związków **P1**, **P7** i **P10**

Na rysunku 4.3.7 dokonano porównania widma chloryny (**Ch1**) oraz wyjściowej porfiryny (**P2**), z której powstała. Na widmie można zaobserwować niewielkie przesunięcie maksimów pasm absorpcji chloryny w kierunku fal dłuższych oraz ich poszerzenie. Ponadto obserwuje się wzrost intensywności pasma występującego przy długości fali 650 nm. Dla związku **Ch2** sytuacja jest analogiczna, a więc podobnie jak w przypadku porfiryn łańcuch w pierścieniu fenylowym nie wpływa na widmo.

Związek	Pasma Soreta		Pasma Q		
	B (0-0)	Q <sub>y</sub> (1-0)	Q <sub>y</sub> (0-0)	Q <sub>x</sub> (1-0)	Q <sub>x</sub> (0-0)
	$\lambda_{\max}$ nm (log $\epsilon$ )	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ )	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ )	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ )	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ )
	[ $\varphi$ ]	[ $\varphi$ ]	[ $\varphi$ ]	[ $\varphi$ ]	[ $\varphi$ ]
<b>Ch1</b>	416 (5,28)	516 (4,03)	544 (3,87)	597 (3,65)	651 (4,41)
	[24038 cm <sup>-1</sup> ]	[19380 cm <sup>-1</sup> ]	[18382 cm <sup>-1</sup> ]	[16750 cm <sup>-1</sup> ]	[15361 cm <sup>-1</sup> ]
<b>Ch2</b>	426 (5,32)	524 (4,13)	554 (3,89)	596 (3,66)	653 (4,39)
	[23474 cm <sup>-1</sup> ]	[19084 cm <sup>-1</sup> ]	[18050 cm <sup>-1</sup> ]	[16778 cm <sup>-1</sup> ]	[15314 cm <sup>-1</sup> ]

Tabela 4.3.1 Maksima absorpcji i wartości molowych współczynników absorpcji ( $\epsilon$ ) związków **Ch1** i **Ch2**



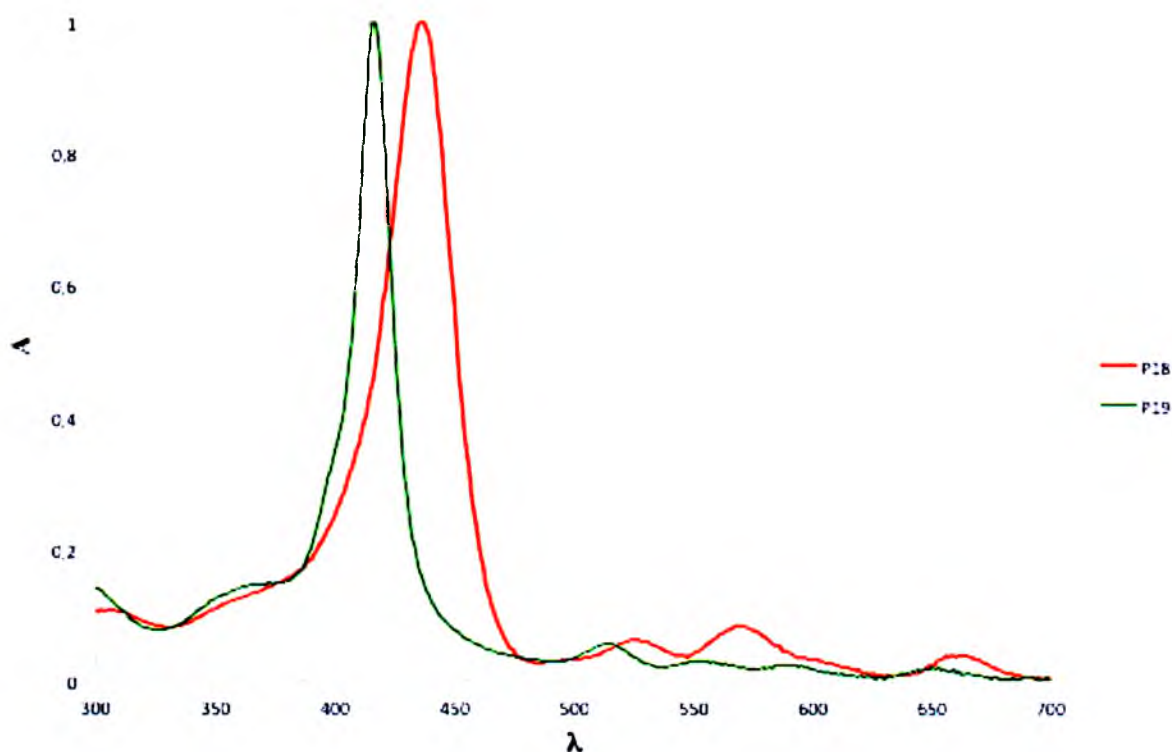
Rys. 4.3.7 Porównania widm absorpcyjnych związków **P2** i **Ch1**

Związek	Pasmo Soreta		Pasma Q		
	B (0-0)	Q <sub>y</sub> (1-0)	Q <sub>y</sub> (0-0)	Q <sub>x</sub> (1-0)	Q <sub>x</sub> (0-0)
	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ )	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ )	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ )	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ )	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ )
	[ $\bar{\nu}$ ]	[ $\bar{\nu}$ ]	[ $\bar{\nu}$ ]	[ $\bar{\nu}$ ]	[ $\bar{\nu}$ ]
<b>P1</b>	420 (5,63)	517 (4,21)	554 (3,90)	592 (3,65)	651 (3,72)
	[23810 cm <sup>-1</sup> ]	[19342 cm <sup>-1</sup> ]	[18051 cm <sup>-1</sup> ]	[16892 cm <sup>-1</sup> ]	[15361 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P2</b>	415 (5,66)	514 (4,25)	549 (3,81)	590 (3,62)	650 (3,67)
	[24096 cm <sup>-1</sup> ]	[19455 cm <sup>-1</sup> ]	[18215 cm <sup>-1</sup> ]	[16949 cm <sup>-1</sup> ]	[15385 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P3</b>	423 (5,59)	518 (4,18)	550 (3,80)	592 (3,65)	651 (3,65)
	[23641 cm <sup>-1</sup> ]	[19305 cm <sup>-1</sup> ]	[18182 cm <sup>-1</sup> ]	[16892 cm <sup>-1</sup> ]	[15361 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P4</b>	424 (5,61)	519 (4,19)	551 (3,77)	591 (3,71)	650 (3,55)
	[23585 cm <sup>-1</sup> ]	[19268 cm <sup>-1</sup> ]	[18149 cm <sup>-1</sup> ]	[16920 cm <sup>-1</sup> ]	[15385 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P5</b>	420 (5,55)	518 (4,13)	549 (3,84)	594 (3,69)	649 (3,53)
	[23810 cm <sup>-1</sup> ]	[19305 cm <sup>-1</sup> ]	[18215 cm <sup>-1</sup> ]	[16835 cm <sup>-1</sup> ]	[15408 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P6</b>	421 (5,56)	518 (4,15)	549 (3,83)	593 (3,67)	651 (3,54)
	[23753 cm <sup>-1</sup> ]	[19305 cm <sup>-1</sup> ]	[18215 cm <sup>-1</sup> ]	[16863 cm <sup>-1</sup> ]	[15361 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P7</b>	423 (5,52)	519 (4,11)	556 (3,91)	594 (3,63)	651 (3,67)
	[23641 cm <sup>-1</sup> ]	[19268 cm <sup>-1</sup> ]	[17986 cm <sup>-1</sup> ]	[16835 cm <sup>-1</sup> ]	[15361 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P8</b>	422 (5,54)	517 (4,16)	553 (3,81)	593 (3,66)	651 (3,70)
	[23697 cm <sup>-1</sup> ]	[19342 cm <sup>-1</sup> ]	[18083 cm <sup>-1</sup> ]	[16863 cm <sup>-1</sup> ]	[15361 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P9</b>	419 (5,60)	517 (4,15)	550 (3,79)	591 (3,62)	647 (3,66)
	[23866 cm <sup>-1</sup> ]	[19342 cm <sup>-1</sup> ]	[18182 cm <sup>-1</sup> ]	[16920 cm <sup>-1</sup> ]	[15456 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P10</b>	419 (5,55)	517 (4,16)	554 (3,88)	592 (3,68)	648 (3,71)
	[23866 cm <sup>-1</sup> ]	[19342 cm <sup>-1</sup> ]	[18051 cm <sup>-1</sup> ]	[16892 cm <sup>-1</sup> ]	[15432 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P11</b>	419 (5,51)	519 (4,17)	553 (3,90)	595 (3,61)	652 (3,69)
	[23866 cm <sup>-1</sup> ]	[19268 cm <sup>-1</sup> ]	[18083 cm <sup>-1</sup> ]	[16807 cm <sup>-1</sup> ]	[15337 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P12</b>	426 (5,56)	520 (4,18)	558 (3,94)	593 (3,69)	651 (3,68)
	[23474 cm <sup>-1</sup> ]	[19231 cm <sup>-1</sup> ]	[17921 cm <sup>-1</sup> ]	[16863 cm <sup>-1</sup> ]	[15361 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P13</b>	424 (5,53)	519 (4,19)	558 (3,89)	594 (3,59)	650 (3,61)
	[23585 cm <sup>-1</sup> ]	[19268 cm <sup>-1</sup> ]	[17921 cm <sup>-1</sup> ]	[16835 cm <sup>-1</sup> ]	[15385 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P14</b>	427 (5,54)	520 (4,20)	557 (3,87)	594 (3,70)	650 (3,58)
	[23419 cm <sup>-1</sup> ]	[19231 cm <sup>-1</sup> ]	[17953 cm <sup>-1</sup> ]	[16835 cm <sup>-1</sup> ]	[15385 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P15</b>	428 (5,39)	520 (4,14)	556 (3,84)	594 (3,72)	650 (3,61)
	[23364 cm <sup>-1</sup> ]	[19231 cm <sup>-1</sup> ]	[17986 cm <sup>-1</sup> ]	[16835 cm <sup>-1</sup> ]	[15385 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P16</b>	423 (5,51)	519 (4,09)	556 (3,81)	592 (3,69)	649 (3,62)
	[23641 cm <sup>-1</sup> ]	[19268 cm <sup>-1</sup> ]	[17986 cm <sup>-1</sup> ]	[16892 cm <sup>-1</sup> ]	[15408 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P17</b>	419 (5,58)	517 (4,21)	554 (3,82)	593 (3,63)	651 (3,66)
	[23866 cm <sup>-1</sup> ]	[19342 cm <sup>-1</sup> ]	[18051 cm <sup>-1</sup> ]	[16863 cm <sup>-1</sup> ]	[15361 cm <sup>-1</sup> ]

Tabela 4.3.2 Maksima absorpcji i wartości molowych współczynników absorpcji ( $\epsilon$ ) związków **P1 – P17**

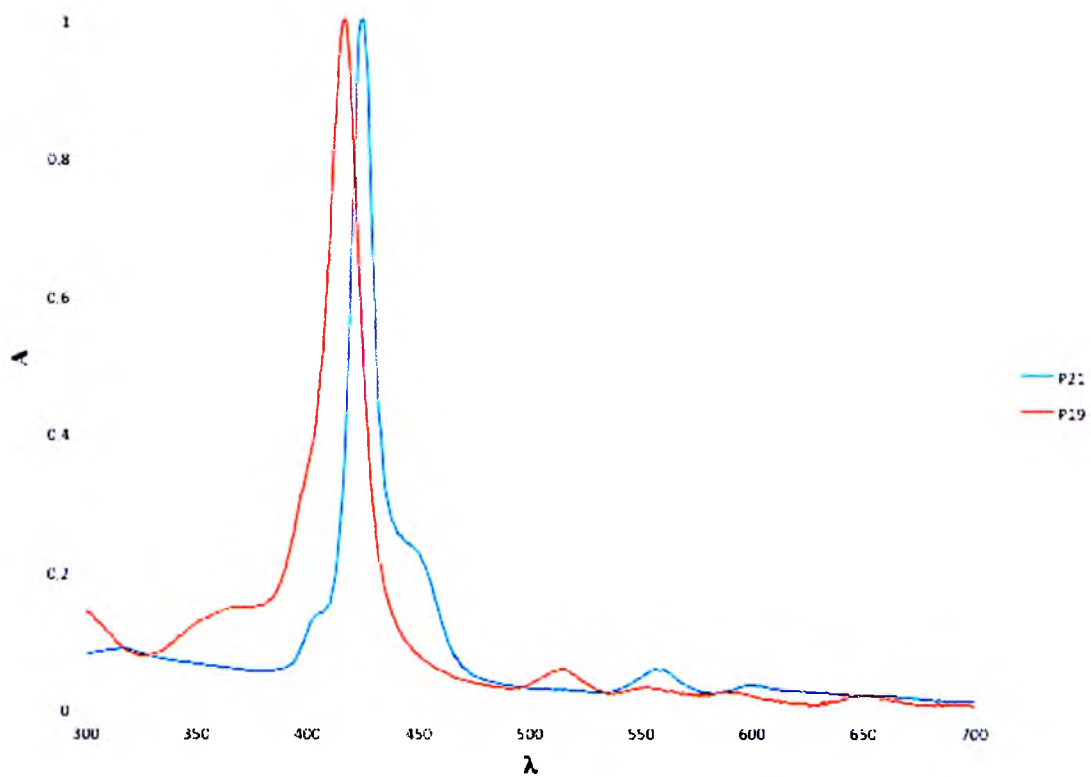
### 4.3.2 Widma absorpcyjne aminowych pochodnych porfiryn

Pochodne aminowe tetrafenyloporfiryny charakteryzuje poszerzenie pasm absorpcyjnych w porównaniu z pochodnymi hydroksylowymi oraz przesunięcie maksimów pasm w kierunku fal dłuższych. Ponadto zauważono obecność tylko trzech pasm Q. Na rysunku 4.3.6 zaprezentowano widma absorpcyjne pochodnej aminowej **P18** oraz jej czwartorzędowej soli **P19**. Widać, że w przypadku soli następuje zwężenie pasm, przesunięcie w kierunku fal krótszych oraz rozdzielenie gałęzi Q na cztery pasma.



Rys. 4.3.6 Porównania widm absorpcyjnych związków **P18** i **P19**

Rysunek 4.3.7 ilustruje widmo czwartorzędowej soli aminowej pochodnej porfirynewej **P19** oraz jej cynkowej pochodnej **P21**. Widać wyraźnie, że w przypadku związku zmetalizowanego następuje redukcja pasm Q z czterech do dwóch, co jest zgodne z oczekiwaniami, a wiąże się z podniesieniem symetrii porfiryny zmetalizowanej. Widma absorpcyjne pozostałych otrzymanych związków (**P24** – **P27**) miały podobny kształt jak w przypadku omówionych już związków (**P1** – **P17**), a ich dane zostały przedstawione w tabeli 4.3.3.



Rys. 4.3.6 Porównania widm absorpcyjnych związków **P19** i **P21**



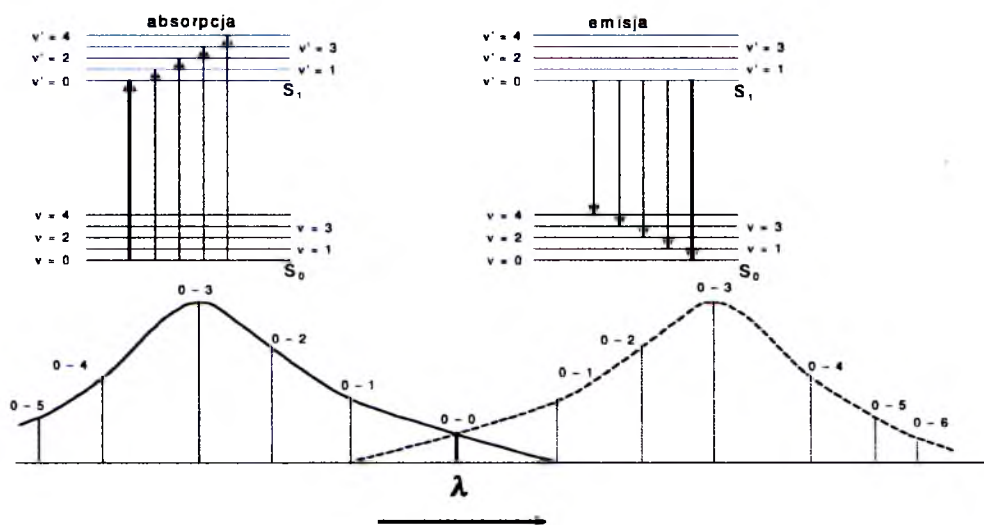
Związek	Pasma Soreta		Pasma Q		
	B (0-0)	Q <sub>y</sub> (1-0)	Q <sub>y</sub> (0-0)	Q <sub>x</sub> (1-0)	Q <sub>x</sub> (0-0)
	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ ) [ $\tilde{\nu}$ ]	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ ) [ $\tilde{\nu}$ ]	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ ) [ $\tilde{\nu}$ ]	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ ) [ $\tilde{\nu}$ ]	$\lambda_{\max}$ [nm] (log $\epsilon$ ) [ $\tilde{\nu}$ ]
<b>P18</b>	434 (5,19)	526 (4,03)	573 (4,11)	-	660 (3,84)
	[23041 cm <sup>-1</sup> ]	[19011 cm <sup>-1</sup> ]	[17452 cm <sup>-1</sup> ]		[15152 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P19</b>	425 (5,09)	524 (3,86)	564 (3,72)	589 (3,63)	654 (3,50)
	[23529 cm <sup>-1</sup> ]	[19084 cm <sup>-1</sup> ]	[17730 cm <sup>-1</sup> ]	[16978 cm <sup>-1</sup> ]	[15291 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P20</b>	431 (5,19)	555 (4,17)	599 (3,99)	-	-
	[23202 cm <sup>-1</sup> ]	[18018 cm <sup>-1</sup> ]	[16694 cm <sup>-1</sup> ]		
<b>P21</b>	425 (5,21)	560 (4,11)	601 (4,00)	-	-
	[23529 cm <sup>-1</sup> ]	[17857 cm <sup>-1</sup> ]	[16639 cm <sup>-1</sup> ]		
<b>P22</b>	434 (5,05)	525 (4,09)	570 (4,03)	-	660 (3,82)
	[23041 cm <sup>-1</sup> ]	[19048 cm <sup>-1</sup> ]	[17544 cm <sup>-1</sup> ]		[15152 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P23</b>	431 (5,12)	524 (3,94)	571 (3,74)	590 (3,68)	661 (3,57)
	[23202 cm <sup>-1</sup> ]	[19084 cm <sup>-1</sup> ]	[17513 cm <sup>-1</sup> ]	[16949 cm <sup>-1</sup> ]	[15129 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P24</b>	427 (5,35)	523 (4,12)	564 (3,90)	593 (3,73)	654 (3,69)
	[23419 cm <sup>-1</sup> ]	[19120 cm <sup>-1</sup> ]	[17730 cm <sup>-1</sup> ]	[16863 cm <sup>-1</sup> ]	[15291 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P25</b>	421 (5,06)	517 (4,11)	555 (3,88)	591 (3,73)	651 (3,57)
	[23753 cm <sup>-1</sup> ]	[19342 cm <sup>-1</sup> ]	[18018 cm <sup>-1</sup> ]	[16920 cm <sup>-1</sup> ]	[15361 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P26</b>	420 (5,02)	517 (4,13)	554 (3,90)	591 (3,71)	650 (3,54)
	[23810 cm <sup>-1</sup> ]	[19342 cm <sup>-1</sup> ]	[18051 cm <sup>-1</sup> ]	[16920 cm <sup>-1</sup> ]	[15385 cm <sup>-1</sup> ]
<b>P27</b>	424 (5,11)	519 (4,10)	556 (3,87)	594 (3,67)	649 (3,58)
	[23585 cm <sup>-1</sup> ]	[19268 cm <sup>-1</sup> ]	[17986 cm <sup>-1</sup> ]	[16835 cm <sup>-1</sup> ]	[15408 cm <sup>-1</sup> ]

Tabela 4.3.3 Maksima absorpcji i wartości molowych współczynników absorpcji ( $\epsilon$ ) związków **P18** – **P27**

#### 4.4 Fluorescencja

Zjawisko fluorescencji jest jednym z dwóch procesów ogólnie określanych jako luminescencja. Luminescencja polega na emisji promieniowania elektromagnetycznego ze wzbudzonego stanu elektronowego molekuly do jej stanu podstawowego. W zależności od tego czy przejścia następują pomiędzy stanami singletowymi czy stanem trypletowym i singletowym mamy do czynienia z fluorescencją lub fosforescencją. Ponieważ przejścia pomiędzy stanami o tej samej multipletowości są przejściami dozwolonymi, a więc i najbardziej prawdopodobnymi, fluorescencja jest procesem znacznie szybszym

niż fosforescencja. Wzbudzenie cząsteczki do dowolnego elektronowego wzbudzonego stanu  $S_n$  wiąże się z niemal natychmiastową bezpromienistą dezaktywacją wyższych stanów wzbudzonych do pierwszego wzbudzonego stanu  $S_1$ . Dlatego też mówiąc o fluorescencji ma się na myśli przejścia pomiędzy pierwszym wzbudzonym stanem elektronowym, a dowolnym stanem rotacyjnym i oscylacyjnym podstawowego stanu elektronowego. Fakt ten tłumaczy przesunięcie pasm fluorescencyjnych w kierunku fal dłuższych, w porównaniu z długością fali, przy której następuje absorpcja.



Rys. 4.4.1 Schemat przejść elektronowych<sup>127</sup>

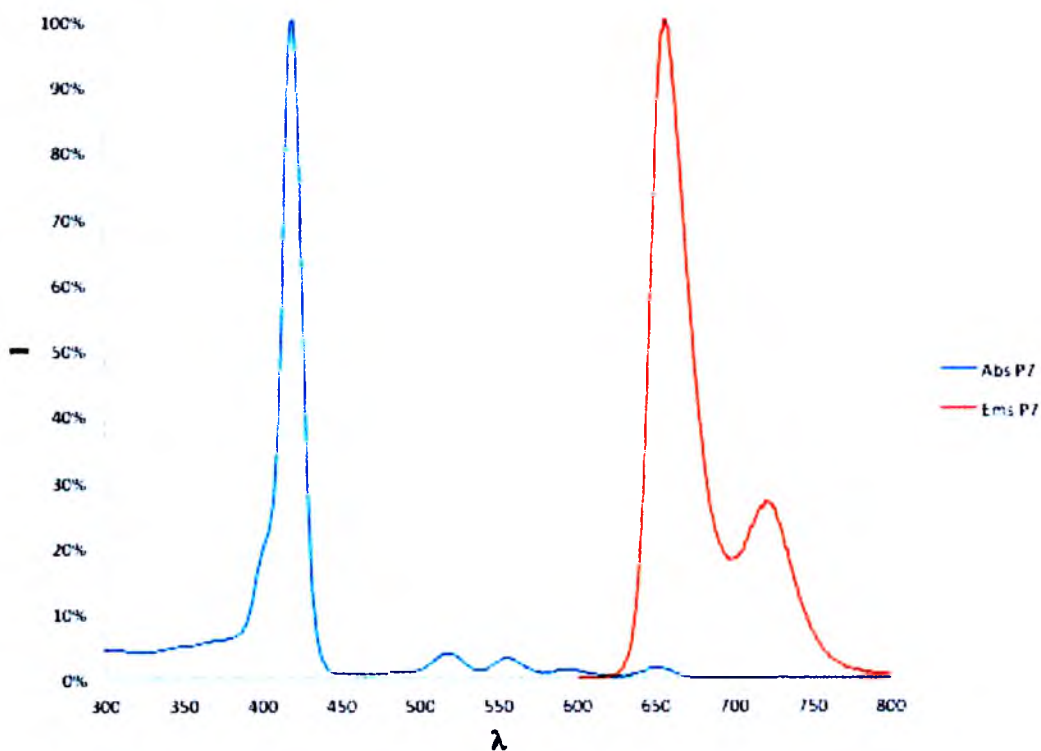
Poza emisją zaabsorbowanego promieniowania oraz bezpromienistą dezaktywacją singletowego stanu wzbudzonego energia może zostać przekazana do stanu trypletowego na drodze przejścia interkombinacyjnego. Proces ten jest związany ze zmianą spinu, a więc jest wzbroniony. Dezaktywacja stanu trypletowego może nastąpić w procesie fosforescencji lub poprzez przekazanie energii sąsiednim cząsteczkom co jest szczególnie istotne z punktu widzenia terapii fotodynamicznej.

Kwantowa wydajność fluorescencji to najogólniej stosunek liczby wyemitowanych przez molekułę fotonów w całym zakresie widma do liczby zaabsorbowanych fotonów o danej energii. Zależność tę ilustruje wzór:

$$\phi_f = \frac{I_f}{I_a}$$

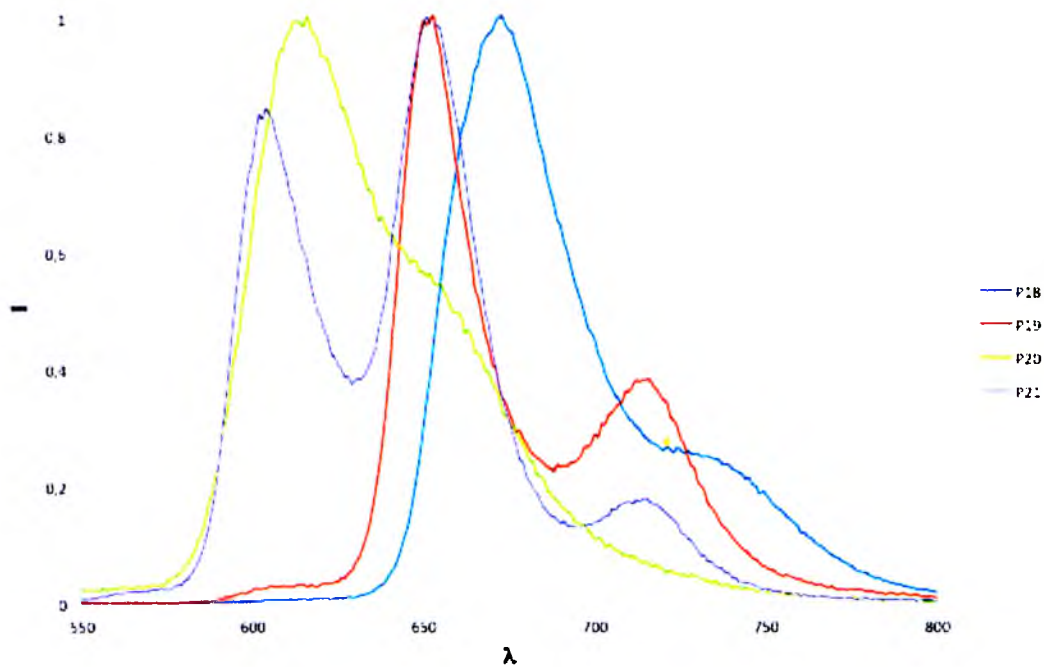
gdzie  $\phi_f$  to kwantowa wydajność fluorescencji,  $I_f$  to całkowite natężenie fluorescencji, a  $I_a$  natężenie zaabsorbowanego promieniowania. Z punktu widzenia zastosowania związku jako fotouczulacza wartość jego kwantowej wydajności fluorescencji powinna być jak najniższa. Niska wartość tego parametru zwiększa bowiem prawdopodobieństwo przejść interkombinacyjnych.

W ramach pracy wykonano widma fluorescencyjne wszystkich otrzymanych związków, na podstawie których wyznaczono dla nich kwantową wydajność fluorescencji.

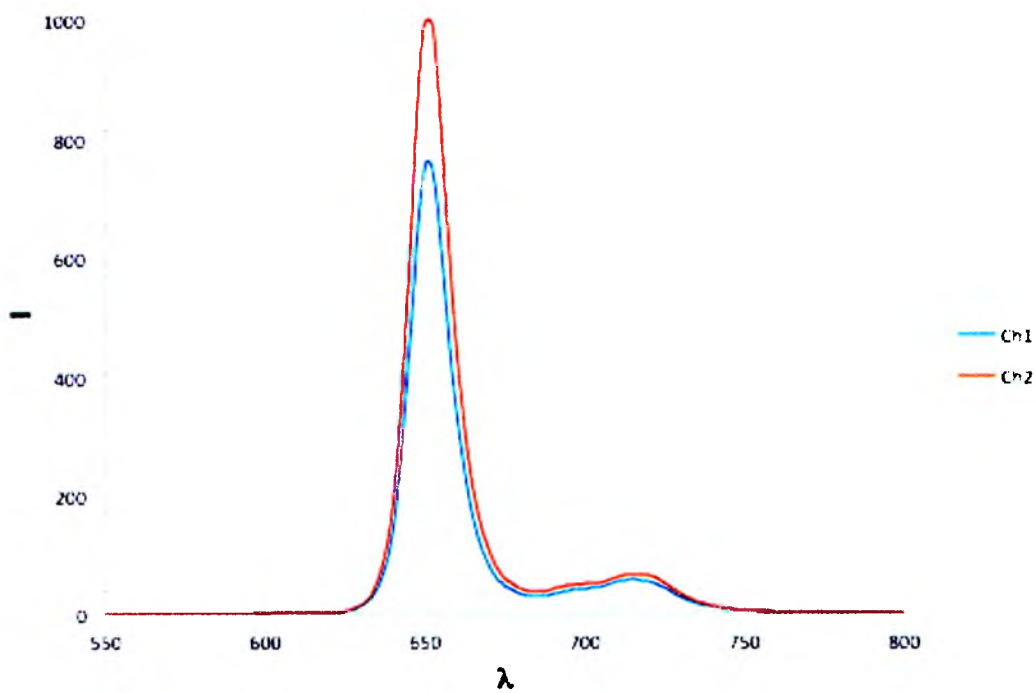


Rys. 4.4.2 Widmo absorpcyjne i emisyjne związku P7

Rysunek 4.4.2 przedstawia widmo absorpcyjne (niebieskie) i emisyjne (czerwone) związku P7. Przebieg widma fluorescencyjnego ma klasyczny kształt dla nie metalizowanych i niezagregowanych porfiryn, z dwoma maksimami przy długości fali około 650 nm (pasmo Q 0-0) i 720 nm (pasmo Q 0-1). Wprowadzenie do wnętrza porfiryny metalu wiąże się z przesunięciem pasm emisji w kierunku fal krótszych (Rys. 4.4.3).



Rys. 4.4.3 Porównanie widm fluorescencyjnych związków **P18 – P21**



Rys. 4.4.4 Porównanie widm fluorescencyjnych chloryn

Jedną z metod pozwalających wyznaczyć kwantową wydajność fluorescencji jest metoda porównawcza. Polega ona na pomiarze fluorescencji wzorca, a więc związku, dla którego kwantowa wydajność fluorescencji jest dobrze znana i porównaniu tej wartości z fluorescencją badanej próbki.<sup>128</sup> Warunkiem otrzymania wiarygodnych wyników w metodzie względnej jest zachowanie dokładnie takich samych warunków pomiarowych dla wzorca i próbki. Kwantową wydajność fluorescencji otrzymanych związków wyznaczono korzystając z równania<sup>129</sup>:

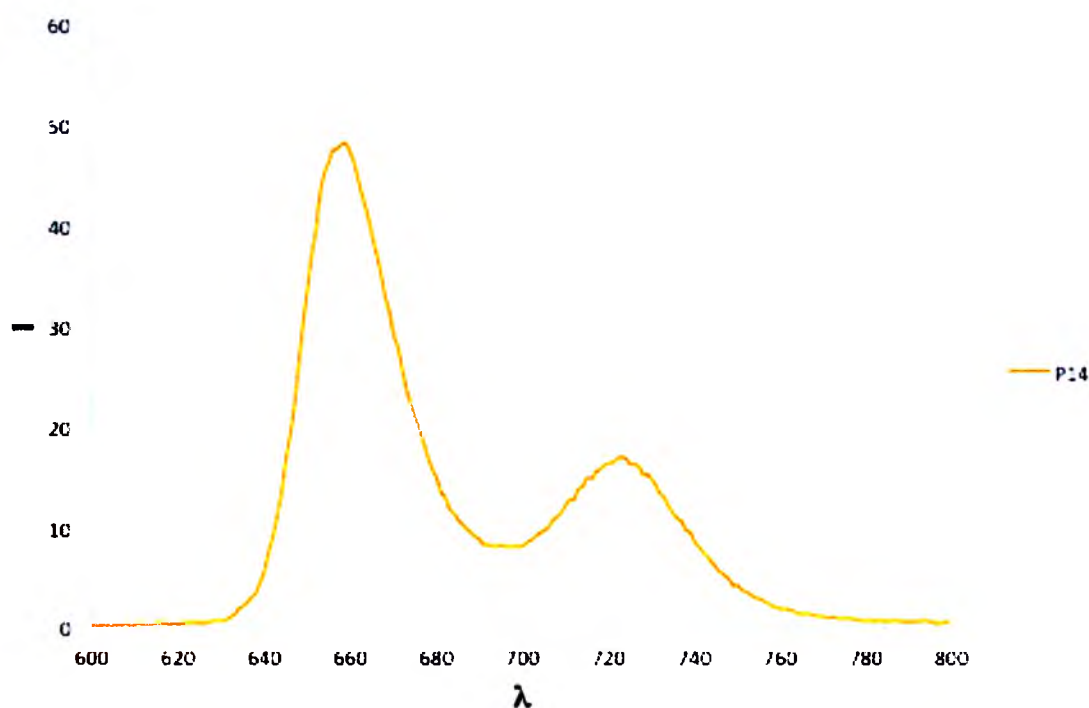
$$\phi = \phi_w \frac{\int_0^\infty I_f(\lambda) d\lambda}{\int_0^\infty I_f^w(\lambda) d\lambda} \cdot \frac{1 - 10^{-A_w}}{1 - 10^{-A}} \cdot \frac{n^2}{n_w^2}$$

gdzie  $\phi_w$  to wydajność kwantowa fluorescencji wzorca,  $I_f$  i  $I_f^w$  intensywności fluorescencji próbki i wzorca,  $A$  i  $A_w$  absorbancja próbki i wzorca oraz  $n$  i  $n_w$  to współczynniki załamania światła rozpuszczalników, w których rozpuszczone były próbka i wzorec. Wzorcem dla otrzymanych w pracy związków była tetrafenyloporfiryra, której kwantowa wydajność fluorescencji wynosi 0,11.<sup>130</sup>

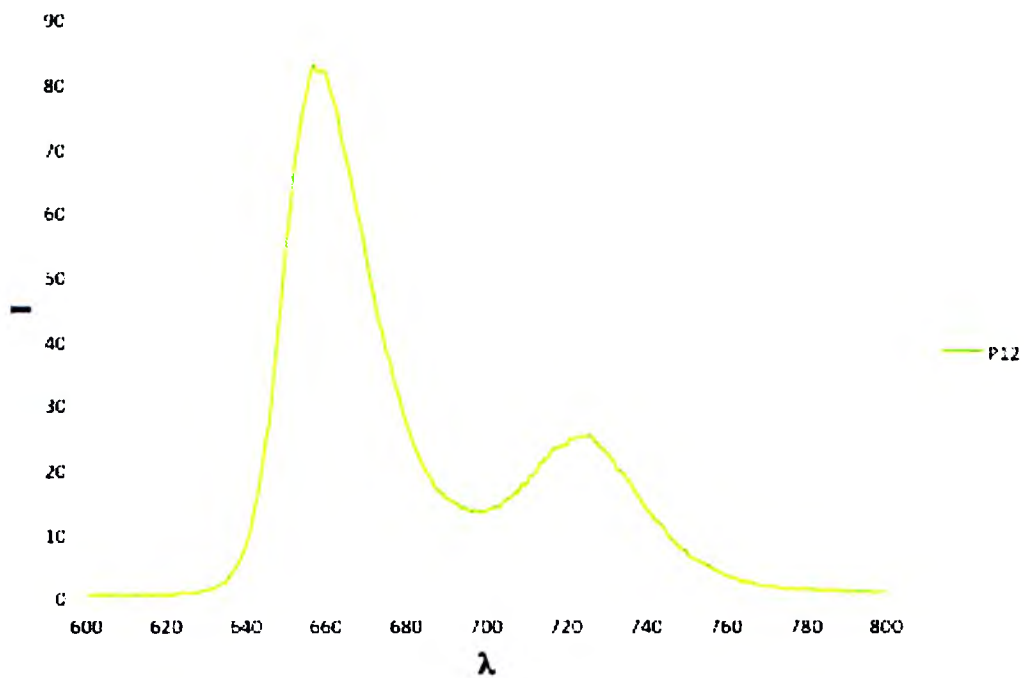
Związek	Q (0-0)	Q (0-1)	Kwantowa wydajność fluorescencji $\phi_F$
	$\lambda_{\max}$ [nm] [ $\tilde{\nu}$ ]	$\lambda_{\max}$ [nm] [ $\tilde{\nu}$ ]	
<b>P1</b>	656 [15244 cm <sup>-1</sup> ]	721 [13870 cm <sup>-1</sup> ]	0,123
<b>P2</b>	654 [15291 cm <sup>-1</sup> ]	719 [13908 cm <sup>-1</sup> ]	0,098
<b>P3</b>	656 [15244 cm <sup>-1</sup> ]	724 [13812 cm <sup>-1</sup> ]	0,126
<b>P4</b>	657 [15221 cm <sup>-1</sup> ]	725 [13793 cm <sup>-1</sup> ]	0,120
<b>P5</b>	655 [15267 cm <sup>-1</sup> ]	721 [13870 cm <sup>-1</sup> ]	0,117
<b>P6</b>	654 [15291 cm <sup>-1</sup> ]	721 [13870 cm <sup>-1</sup> ]	0,119
<b>P7</b>	657 [15221 cm <sup>-1</sup> ]	720 [13889 cm <sup>-1</sup> ]	0,126
<b>P8</b>	651 [15361 cm <sup>-1</sup> ]	717 [13947 cm <sup>-1</sup> ]	0,096
<b>P9</b>	648 [15432 cm <sup>-1</sup> ]	713 [14025 cm <sup>-1</sup> ]	0,086
<b>P10</b>	653 [15314 cm <sup>-1</sup> ]	718 [13928 cm <sup>-1</sup> ]	0,114
<b>P11</b>	650 [15385 cm <sup>-1</sup> ]	713 [14025 cm <sup>-1</sup> ]	0,092
<b>P12</b>	657 [15221 cm <sup>-1</sup> ]	726 [13774 cm <sup>-1</sup> ]	0,128
<b>P13</b>	655 [15267 cm <sup>-1</sup> ]	724 [13812 cm <sup>-1</sup> ]	0,125
<b>P14</b>	659 [15174 cm <sup>-1</sup> ]	723 [13831 cm <sup>-1</sup> ]	0,118
<b>P15</b>	658 [15198 cm <sup>-1</sup> ]	725 [13793 cm <sup>-1</sup> ]	0,121
<b>P16</b>	655 [15267 cm <sup>-1</sup> ]	723 [13831 cm <sup>-1</sup> ]	0,118
<b>P17</b>	652 [15337 cm <sup>-1</sup> ]	721 [13870 cm <sup>-1</sup> ]	0,121

Tabela 4.4.1 Kwantowe wydajności fluorescencji związków **P1** – **P17**

Kwantowa wydajność fluorescencji związków **P1** – **P17** jest podobna w przypadku wszystkich pochodnych. Zauważyć można niewielkie obniżenie wartości wydajności fluorescencji izomerów *meta* w porównaniu z izomerami *para* (np. **P9** i **P7**). Ponadto nie obserwuje się wpływu innych ugrupowań, zarówno długiego łańcucha jak i dodatkowych grup metoksyłowych w pierścieniach fenyłowych, na wartość kwantowej wydajności fluorescencji badanych związków. Na kolejnych rysunkach (Rys. 4.4.5 i 4.4.6) przedstawiono typowe dla porfiryn widma fluorescencyjne. Pola powierzchni pod otrzymanymi pikami posłużyły do wyznaczenia kwantowej wydajności fluorescencji.



Rys. 4.4.5 Widmo fluorescencji związku **P14**



Rys. 4.4.6 Widmo fluorescencji związku P12

Związek	Q (0-0)	Q (0-1)	Kwantowa wydajność fluorescencji $\phi_F$
	$\lambda_{\max}$ [nm] [ $\tilde{\nu}$ ]	$\lambda_{\max}$ [nm] [ $\tilde{\nu}$ ]	
<b>Ch1</b>	651	715	0,210
	[15361 cm <sup>-1</sup> ]	[13986 cm <sup>-1</sup> ]	
<b>Ch2</b>	651	716	0,256
	[15361 cm <sup>-1</sup> ]	[13966 cm <sup>-1</sup> ]	

Tabela 4.4.2 Kwantowe wydajności fluorescencji chloryn



Związek	Q (0-0)	Q (0-1)	Kwantowa wydajność fluorescencji $\phi_F$
	$\lambda_{\max}$ [nm] [ $\tilde{\nu}$ ]	$\lambda_{\max}$ [nm] [ $\tilde{\nu}$ ]	
<b>P18</b>	672 [14881 cm <sup>-1</sup> ]	-	0,180
<b>P19</b>	653 [15314 cm <sup>-1</sup> ]	714 [14006 cm <sup>-1</sup> ]	0,046
<b>P20</b>	612 [16340 cm <sup>-1</sup> ]	-	0,063
<b>P21</b>	602 [16611 cm <sup>-1</sup> ]	651 [15361 cm <sup>-1</sup> ]	0,067
<b>P22</b>	669 [14948 cm <sup>-1</sup> ]	-	0,160
<b>P23</b>	651 [15361 cm <sup>-1</sup> ]	714 [14006 cm <sup>-1</sup> ]	0,083
<b>P24</b>	660 [15152 cm <sup>-1</sup> ]	-	0,210
<b>P25</b>	649 [15408 cm <sup>-1</sup> ]	717 [13947 cm <sup>-1</sup> ]	0,111
<b>P26</b>	651 [15361 cm <sup>-1</sup> ]	720 [13889 cm <sup>-1</sup> ]	0,112
<b>P27</b>	653 [15314 cm <sup>-1</sup> ]	721 [13870 cm <sup>-1</sup> ]	0,131

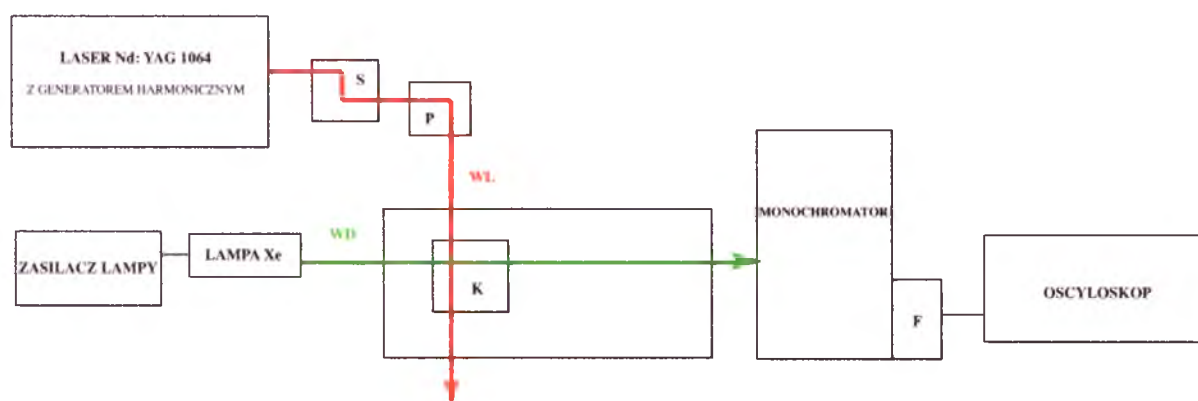
Tabela 4.4.3 Kwantowe wydajności fluorescencji związków **P18 – P27**

Obecność metalu wewnątrz pierścienia porfirynowego (**P20**, **P21**) lub jonów jodkowych w czwartorzędowej soli amoniowej porfiryny (**P19**, **P21**) znacznie wpływają na obniżenie kwantowej wydajności fluorescencji. Wy tłumaczeniem dla tego zjawiska może być tzw. efekt ciężkiego atomu. Obecność w moleku le atomu o dużym ładunku dodatnim jądra zwiększa prawdopodobieństwo przejść interkombinacyjnych, czego konsekwencją jest obniżenie kwantowej wydajności fluorescencji.

Niskie wartości kwantowej wydajności fluorescencji otrzymanych związków predestynują je do potencjalnych zastosowań medycznych - jako fotouczulaczy - ponieważ zwiększają prawdopodobieństwo przejścia związku do elektronowo wzbudzonego stanu trypletowego.

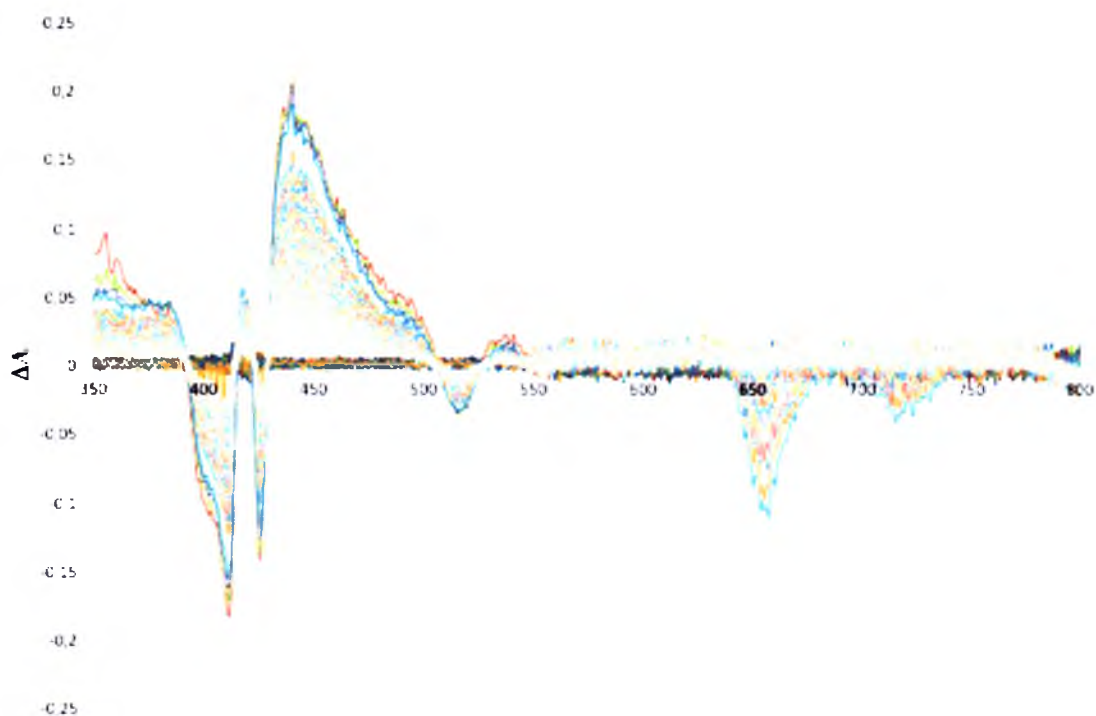
## 4.5 Czasy życia stanów trypletowych

Jednym z kryteriów jakie powinien spełniać związek chemiczny, który potencjalnie mógłby znaleźć zastosowanie w terapii fotodynamicznej jest wysoka wydajność kwantowa stanu trypletowego. Zakładając, że całkowita kwantowa wydajność stanów wzbudzonych jest sumą kwantowej wydajności stanu singletowego i trypletowego, możemy założyć, że niska kwantowa wydajność fluorescencji implikuje wysoką wydajność kwantową stanu trypletowego cząsteczki. Jest to pewne przybliżenie, w którym pomijane są procesy bezpromienistej dezaktywacji stanów wzbudzonych. Jeśli generowanie stanów trypletowych w molekuale jest procesem wydajnym, ważne jest by stan ten posiadał długi czas życia (powyżej 1  $\mu$ s). Związek pozostając odpowiednio długo w stanie trypletowym może przekazać energię innym cząsteczkom obecnym w jego otoczeniu, co jest kluczowe z punktu widzenia PDT. Metodą pozwalającą wyznaczyć czasy życia stanów trypletowych jest laserowa fotoliza błyskowa. Jest to technika, dzięki której możliwe jest badanie kinetyki i mechanizmów bardzo szybkich reakcji. Pomiar polega na rejestracji sygnału próbki i odnośnika, gdzie odnośnikiem jest układ przed błyskiem lasera. Dlatego też mierzona jest nie absorbancja, a jej zmiana. Dla małych zmian absorbancji konieczne jest stosowanie dodatkowego promieniowania detekcyjnego. Schemat spektrometru do laserowej fotolizy błyskowej stosowanego w pomiarach czasów życia stanów trypletowych przedstawiono na rysunku 4.5.1.



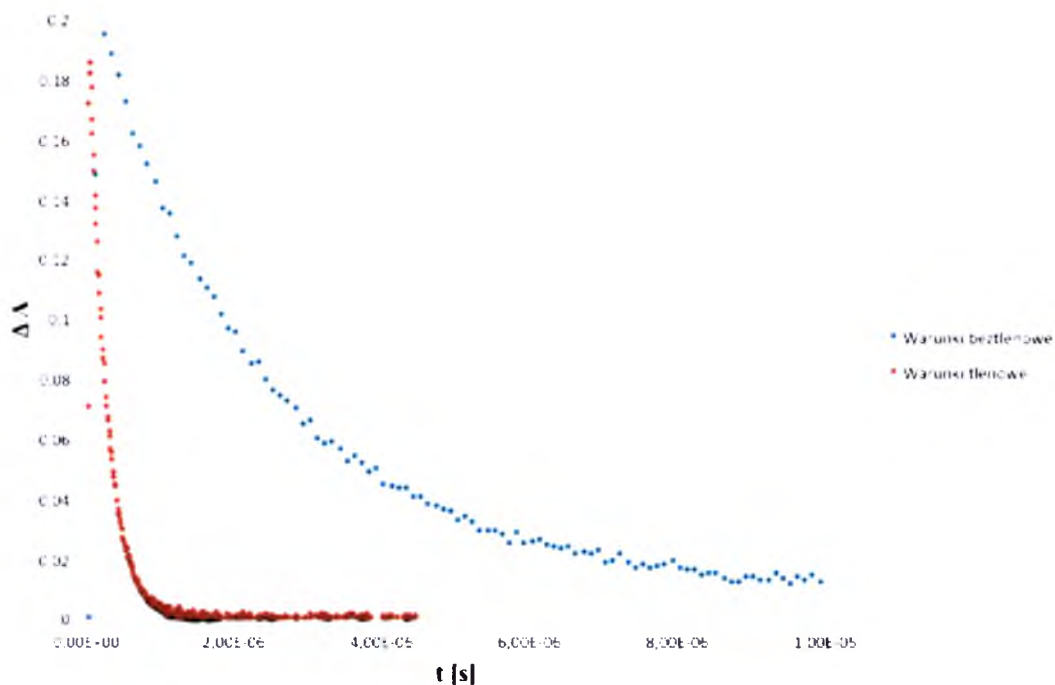
Rys. 4.5.1 Schemat spektrometru do laserowej fotolizy błyskowej (S – separator harmoniczny; P – pryzmat kierujący; K – komora z próbką; F – fotopowielacz; WL – wiązka lasera; WD – wiązka detekcyjna)

Otrzymane różnicowe widma absorpcyjne dla badanych związków pozwoliły na wyznaczenie obszaru, dla którego obserwowane są przejścia tryplet – tryplet. Na rysunku 4.5.2 prezentowane jest widmo absorpcji przejściowej, na którym widać obszary dodatnie odpowiedzialne za absorpcję w stanie wzbudzonym oraz obszary ujemne związane ze zmniejszeniem się populacji cząsteczek w stanie podstawowym. Maksima przejść tryplet –tryplet dla otrzymanych związków znajdowały się przy długości fali od 440 do 470 nm.



Rys. 4.5.2 Widmo absorpcji przejściowej związku **P8**

Kolejnym etapem było wyznaczenie średnich czasów życia stanów trypletowych. W tym celu zarejestrowano krzywe zaniku stanu trypletowego dla wybranych długości fali w zakresie 440 – 470 nm. Pomiarów dokonano w warunkach równowagi roztworów z powietrzem oraz w warunkach zbliżonych do beztlennowych po przepłukaniu próbki argonem przez 30 minut.



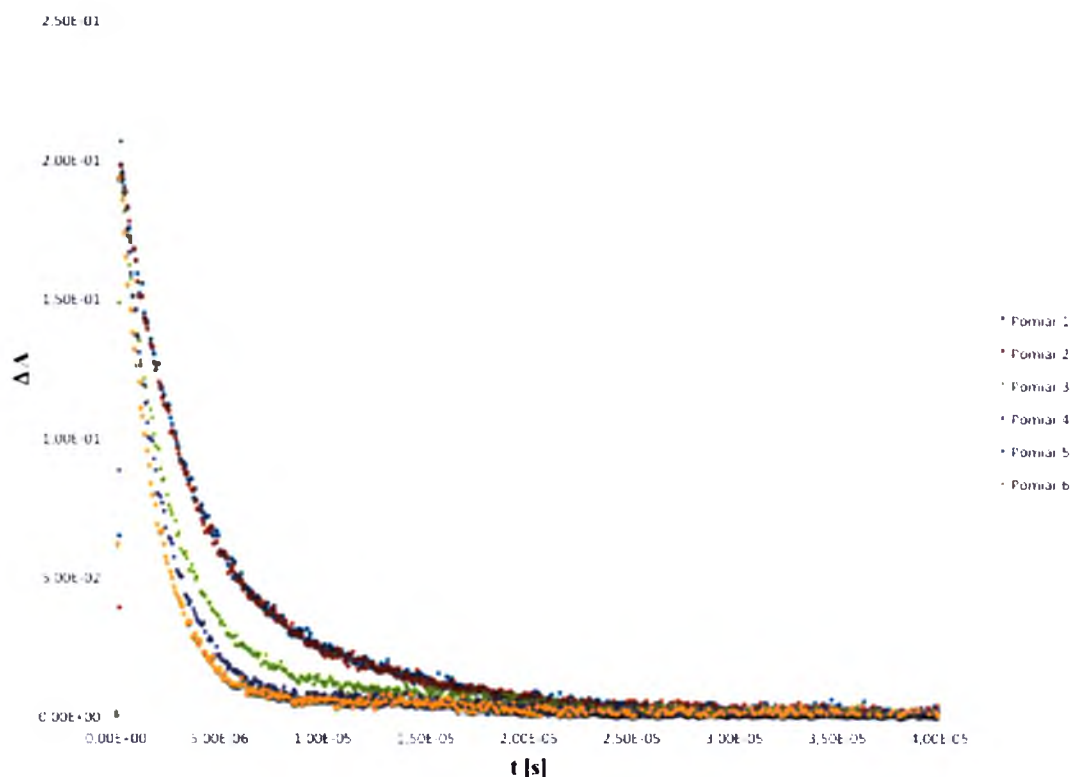
Rys. 4.5.3 Krzywe zaniku stanów trypletowych związku **P11**

Rysunek 4.5.3 prezentuje typowe krzywe zaniku stanów trypletowych w warunkach równowagi próbki z powietrzem (czerwone) oraz warunkach zbliżonych do beztlenowych. Widać wyraźnie, że czas życia stanu trypletowego znacznie się wydłuża, gdy w środowisku nie ma tlenu. Dzieje się tak dlatego, ponieważ tlen jest efektywnym wygaszaczem stanów trypletowych. W celu wyznaczenia czasów życia stanów trypletowych do punktów pomiarowych zostały dopasowane krzywe eksponencjalne zgodnie z równaniem:

$$\Delta A = a \cdot \exp(-k\tau) + c$$

gdzie  $k$  reprezentuje stałą szybkości zaniku stanu trypletowego i pozostaje w zależności z czasem życia stanu trypletowego ( $\tau$ ) takiej, że:

$$\tau = \frac{1}{k}$$



Rys. 4.5.4 Krzywe zaniku stanu trypletowego w próbce odtlenowanej

Każda krzywa pomiarowa zaniku stanu trypletowego w warunkach równowagi roztworów z powietrzem była średnią z 10 wzbudzeń promieniowaniem laserowym. Czasy życia wyznaczono na podstawie średniej z 10 takich krzywych pomiarowych. W przypadku warunków zbliżonych do beztlenowych każda krzywa pomiarowa była średnią z 5 wzbudzeń promieniowaniem laserowym. Po każdym odtlenowaniu próbki dokonywano 5 pomiarów. Czasy życia stanów trypletowych również wyznaczono na podstawie średniej z 10 otrzymanych w warunkach zbliżonych do beztlenowych krzywych pomiarowych. Na rysunku 4.5.4 wyraźnie widać, że pomimo przepłukiwania próbki argonem przez 30 minut kolejne pomiary zaniku stanów trypletowych wykonane jeden po drugim wiążą się ze skróceniem czasu życia tych stanów. W tabelach (Tabela 4.5.1 i 4.5.2) prezentowane są wartości czasów życia stanów trypletowych. Należy jednak zaznaczyć, że są to wartości średnie z kilku pomiarów i o ile w przypadku próbek natlenowanych kolejne pomiary nie wpływały na czasy życia stanów trypletowych (zbliżone czasy życia stanów trypletowych w każdym pomiarze), o tyle w przypadku warunków beztlenowych skutkowały skróceniem tych czasów (w kolejnych pomiarach czas życia stanów trypletowych ulegał skróceniu – Rys. 4.5.4). Wydłużenie czasu życia w warunkach beztlenowych świadczy o skutecznym wygaszaniu tych stanów przez tlen.

Energia ze stanu trypletowego przekazana do cząsteczki tlenu może doprowadzić do jego wzbudzenia co jest pożądane z punktu widzenia PDT.

Związek	Warunki tlenowe	Warunki beztlenowe
	$\tau_T$ [ $\mu s$ ]	$\tau_T$ [ $\mu s$ ]
P1	0,231	2,00
P2	0,275	2,00
P3	0,258	1,90
P4	0,324	2,01
P5	0,273	1,81
P6	0,252	1,70
P7	0,232	1,77
P8	0,257	1,48
P9	0,279	1,35
P10	0,237	1,13
P11	0,266	1,80
P12	0,265	1,43
P13	0,271	1,33
P14	0,276	1,48
P15	0,300	1,20
P16	0,286	1,20
P17	0,217	1,27

Tabela 4.5.1 Czasy życia stanów trypletowych związków **P1 – P17**

Związek	Warunki tlenowe	Warunki beztlenowe
	$\tau_T$ [ $\mu s$ ]	$\tau_T$ [ $\mu s$ ]
<b>P18</b>	0,206	3
<b>P19</b>	0,378	2,12
<b>P20</b>	0,502	6,95
<b>P21</b>	0,499	2,97
<b>P22</b>	0,265	4,11
<b>P23</b>	0,326	2,58
<b>P24</b>	0,212	-
<b>Ch1</b>	0,219	1,27
<b>Ch2</b>	0,223	0,967

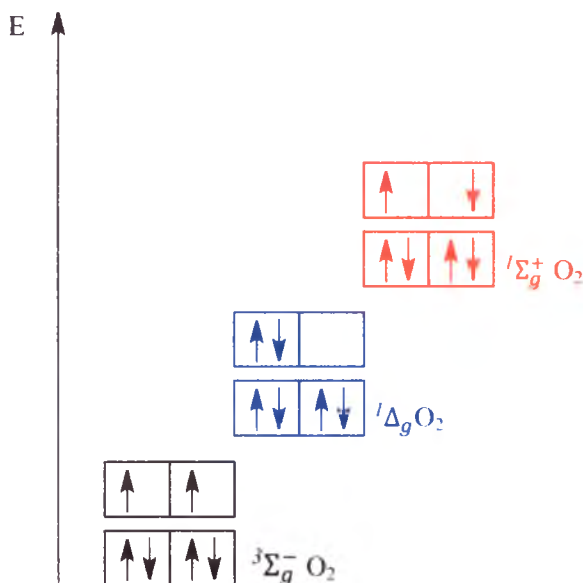
Tabela 4.5.2 Czasy życia stanów trypletowych związków **P18 – P24** oraz **Ch1** i **Ch2**

Dłuższe czasy życia stanów trypletowych pochodnych aminowych (**P18 – P23**), w warunkach zbliżonych do beztlenowych, w porównaniu z pochodnymi hydroksylowymi (**P1 – P17**) i chlorynami (**Ch1** i **Ch2**) mogą sprawiać, że związki te będą wydajniej generować tlen singletowy, a więc będą bardziej wydajnymi fotouczulaczami.

#### 4.6 Tlen singletowy

Tlen singletowy jest bardzo reaktywną formą tlenu, która pomimo odkrycia w latach 20. XX wieku dopiero w 1963 roku za sprawą Kahna i Kashy wzbudziła ponowne zainteresowanie.<sup>131</sup> Tlen singletowy ze względu na swoje właściwości może znajdować zastosowanie w wielu obszarach chemii, fizyki, biologii czy medycyny, dlatego bardzo wiele prac w ostatnich latach poświęconych było badaniom nad poznaniem jego fizykochemii. Również w terapii fotodynamicznej tlen singletowy odgrywa kluczową rolę. Dzięki energii przekazanej przez fotouczulacz tlenowi obecnemu w środowisku, generowane są reaktywne jego formy, które bezpośrednio odpowiadają za stres oksydacyjny w komórce i jej śmierć.

Tlen molekularny może występować w trzech stanach energetycznych. Podstawowym stanem w jakim występuje tlen molekularny jest stan trypletowy ( $^3\Sigma_g^-$ ). Pozostałe dwa stany to wzbudzone stany singletowe, odpowiednio według wzrastającej energii  $^1\Delta_g$  oraz  $^1\Sigma_g^+$ . Bariera energetyczna występująca pomiędzy stanem podstawowym, a stanami wzbudzonymi wynosi 95 i 158 kJ/mol.



Rys. 4.6.1 Orbitale molekularne  $\pi$  i  $\pi^*$  tlenu w stanie podstawowym ( $^3\Sigma_g^-$ ) i wzbudzonym ( $^1\Delta_g$ ,  $^1\Sigma_g^+$ )

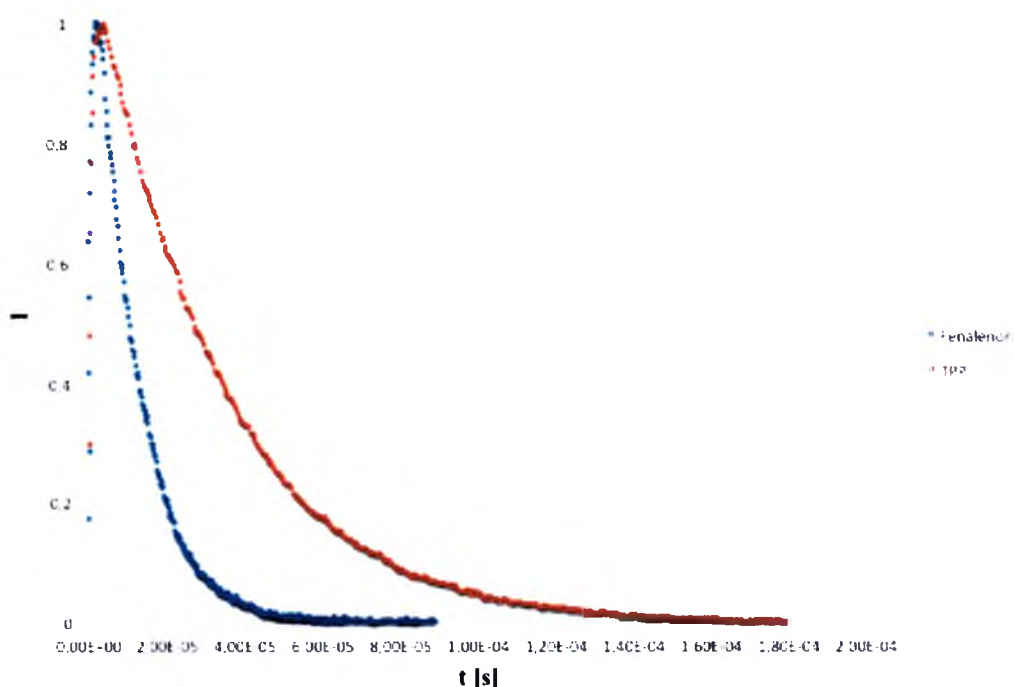
Przejście pomiędzy pierwszym wzbudzonym stanem singletowym tlenu  $^1\Delta_g$ , a stanem podstawowym  $^3\Sigma_g^-$  jest przejściem zabronionym ze względu na zmianę spinu, dlatego stan ten jest stosunkowo trwały.<sup>132-133</sup> Przejścia pomiędzy stanami  $^1\Delta_g$  oraz  $^1\Sigma_g^+$  są spinowo dozwolone dlatego bardzo szybko następuje konwersja stanu  $^1\Sigma_g^+$  do  $^1\Delta_g$ , a więc  $^1\Sigma_g^+$  jest nietrwały. Fakt ten znajduje odzwierciedlenie w czasach życia poszczególnych stanów w roztworze – stan  $^1\Delta_g$  określany jest stanem długożyjącym ( $10^{-6} - 10^{-3}$  s) podczas gdy  $^1\Sigma_g^+$  zanika w czasie  $10^{-11} - 10^{-9}$  s.<sup>134</sup> Przejście pomiędzy pierwszym wzbudzonym stanem singletowym a stanem podstawowym można obserwować jako emisję promieniowania o długości fali 1270 nm.<sup>135</sup>

Tlen singletowy może być generowany przez molekuly znajdujące się we wzbudzonym stanie trypletowym, co wykorzystywane jest w terapii fotodynamicznej. Fotouczulacz absorbuje kwant promieniowania w wyniku czego przechodzi do jednego z wzbudzonych stanów elektronowych  $S_n$ . Niemal natychmiast następuje relaksacja tych stanów do pierwszego wzbudzonego stanu elektronowego  $S_1$ . Następnie molekula w wyniku przejść interkombinacyjnych przechodzi do swojego stanu trypletowego. Stan ten jest na tyle trwały, że cząsteczka ma możliwość przekazania energii cząsteczkom tlenu. W wyniku takiego transferu energii powstaje tlen singletowy. Aby proces generowania tlenu singletowego był wydajny ważne jest by energia stanu trypletowego fotouczulacza była na odpowiednim poziomie ( $E_T \geq 95$  kJ/mol), wydajność kwantowa generowania stanów trypletowych była duża ( $\phi_T > 0,4$ ), a ich czasy życia



stosunkowo długie ( $\tau_T > 1 \mu s$ ). Ponadto ważne jest by związek charakteryzował się wysoką fotostabilnością.<sup>136</sup>

Istnieje wiele metod wyznaczania kwantowej wydajności tlenu singletowego, których przegląd został przedstawiony w pracy Wilkinsona.<sup>137</sup> Należy mieć świadomość, że na wartość kwantowej wydajności tlenu singletowego wpływa wiele czynników i może mieć ona różne wartości w zależności od warunków w jakich został wykonany pomiar oraz rozpuszczalnika w jakim znajdował się związek. W celu wyznaczenia kwantowej wydajności tlenu singletowego wykorzystano metodę laserowej fotolizy błyskowej. Schemat budowy aparatury użytej do tego celu jest bardzo podobny jak w przypadku schematu aparatury do wyznaczania czasów życia stanów trypletowych molekuł, z tym wyjątkiem, że badając luminescencję tlenu nie jest konieczne stosowanie wiązki detekcyjnej. Kwantowa wydajność generowania tlenu singletowego związku jest wyznaczana względem wzorca, dla którego parametr ten jest znany. W pracy jako wzorce stosowano fenalenon oraz tetrafenyloporfiryne, w zależności od rozpuszczalnika w jakim dokonywano pomiarów. W celu wyznaczenia kwantowej wydajności tlenu singletowego mierzono luminescencję tlenu singletowego generowanego przez wzorzec i próbkę. Na rysunku 4.6.2 przedstawiono krzywe zaniku fosforescencji tlenu singletowego fenalenonu i TPP. Emisja następuje przy długości fali 1270 nm.



Rys. 4.6.2 Krzywe zaniku luminescencji tlenu singletowego

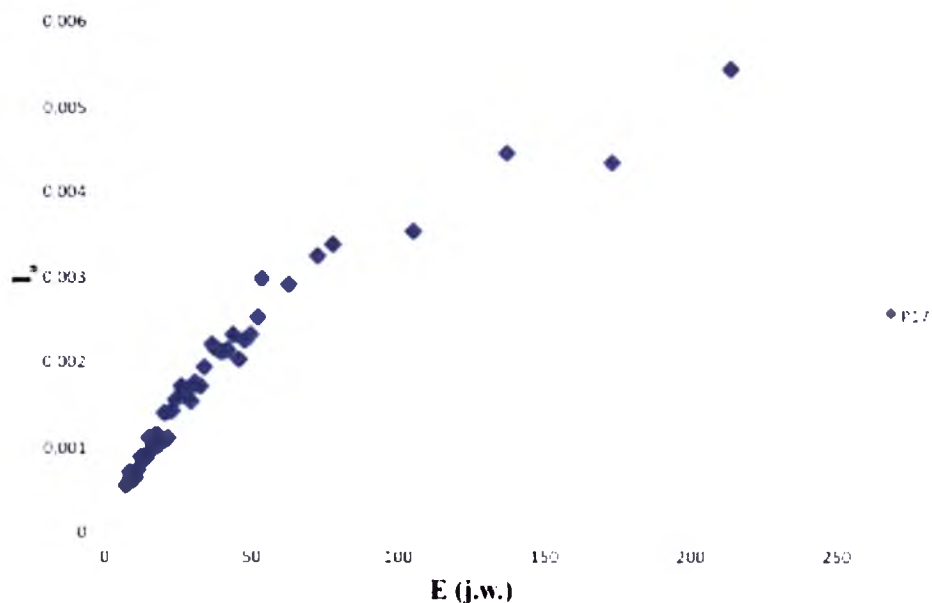
Na prezentowanym wykresie (Rys. 4.6.2) można zauważyć, że czasy życia tlenu singletowego w różnych rozpuszczalnikach są różne. Pomiarów dokonywano zmieniając energię lasera, w wyniku czego otrzymano serię krzywych zaniku luminescencji dla danego związku. Do punktów pomiarowych każdej z otrzymanych krzywych zostały dopasowane krzywe eksponencjalne. Równanie krzywej dopasowania ma postać:

$$I(t) = I_a \cdot \exp(-kt) + c$$

Po dopasowaniu krzywych eksponencjalnych dla wszystkich krzywych zaniku luminescencji tlenu singletowego danego związku, sporządzono wykres zależności współczynnika  $I_a$  krzywej dopasowania, który reprezentuje względną początkową intensywność emisji tlenu od energii impulsu lasera. Na rysunku 4.6.3 przedstawiono typowy przebieg takiej zależności. Można zauważyć, że wykres przebiega liniowo tylko do pewnych granic energii impulsu wzbudzającego i to ten zakres jest brany pod uwagę podczas wyznaczania kwantowej wydajności tlenu singletowego. Wartość tę oblicza się według następującego wzoru:

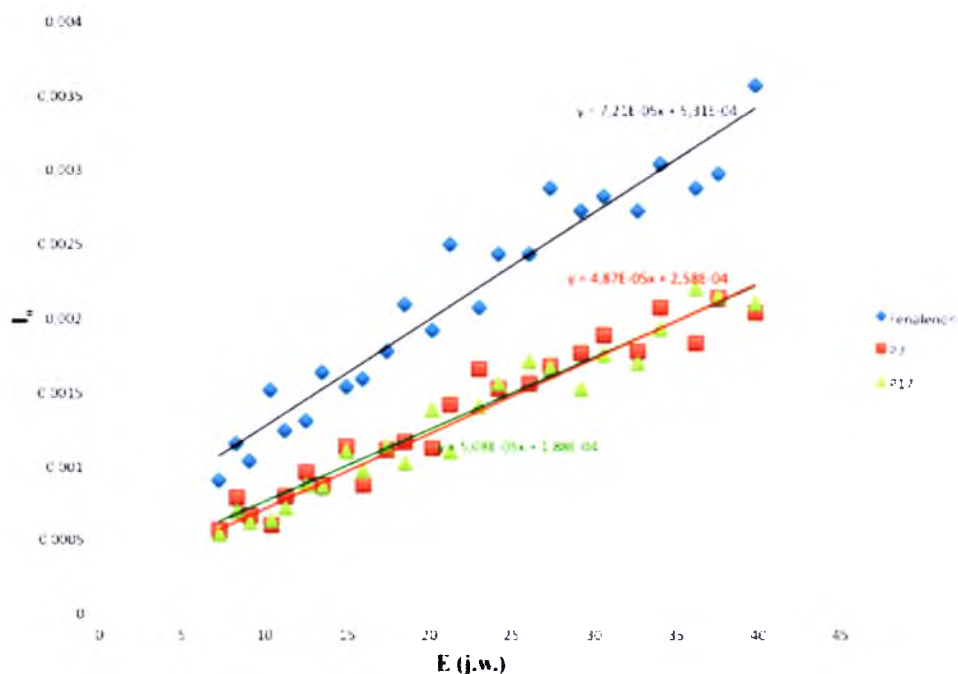
$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta w} \cdot \frac{a}{a_w}$$

gdzie  $\Phi_w$  to kwantowa wydajność generowania tlenu singletowego wzorca, a  $a$  oraz  $a_w$  to współczynniki nachylenia prostych odpowiednio substancji badanej oraz wzorca. Stosowanymi wzorcami były fenalenon oraz tetrafenyloporfiryne, których kwantowe wydajności tlenu singletowego wynoszą odpowiednio 0,95 oraz 0,7.<sup>137</sup>

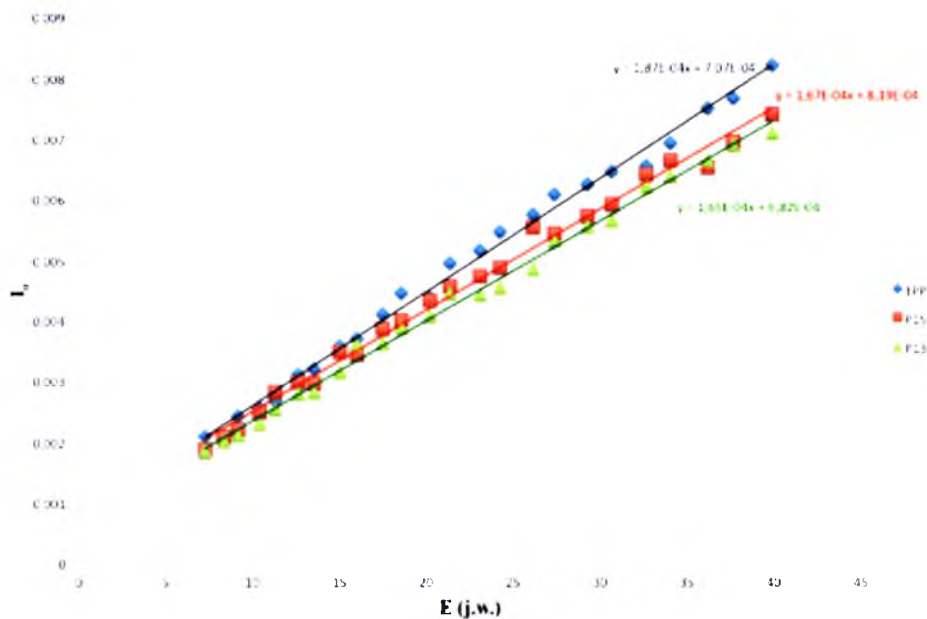


Rys. 4.6.3 Zależność intensywności luminescencji tlenu od energii lasera wyznaczona dla związku **P17**

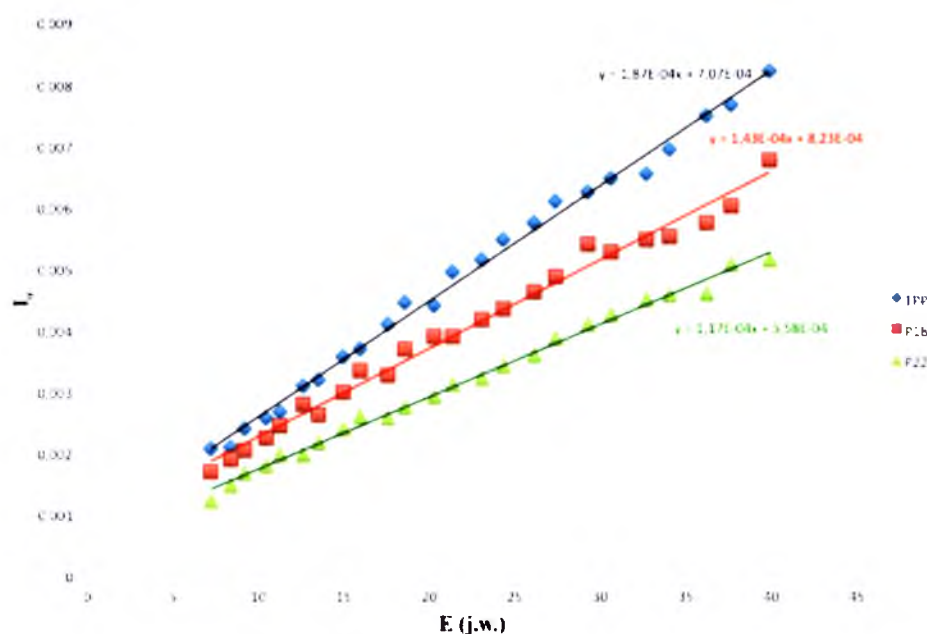
Na kolejnych rysunkach (Rys, 4.6.4 – 4.6.7) przedstawiono przykładowe wykresy początkowej intensywności emisji tlenu singletowego od energii impulsu wzbudzającego otrzymanych związków oraz wzorców. Współczynniki nachylenia prostych posłużyły do wyznaczenia kwantowej wydajności tlenu singletowego.



Rys. 4.6.4 Zależność intensywności luminescencji tlenu od energii lasera wraz z prostymi dopasowania dla wzorca i związków **P7** i **P17**

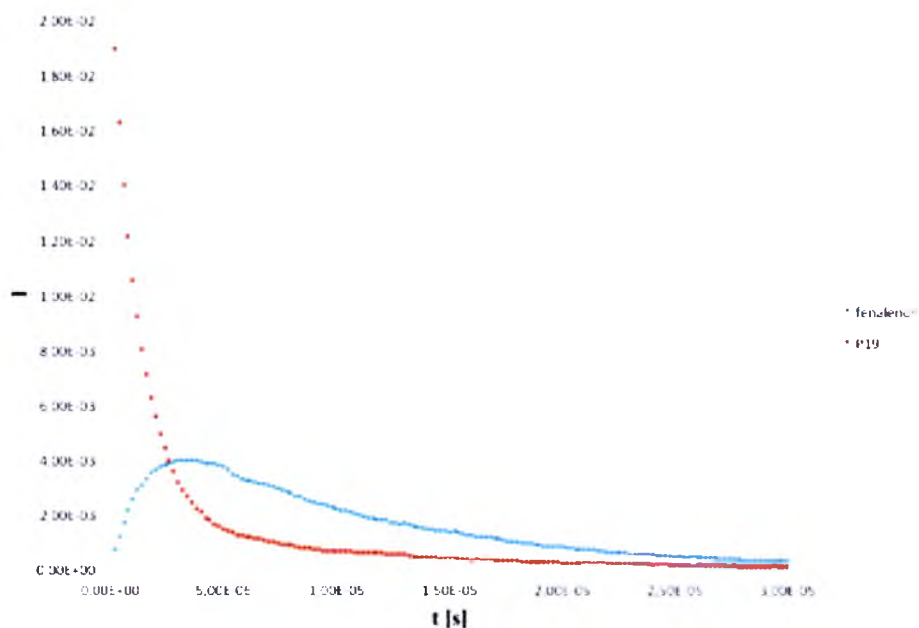


Rys. 4.6.5 Zależność intensywności luminescencji tlenu od energii lasera wraz z prostymi dopasowania dla wzorca i związków **P13** i **P15**



Rys. 4.6.6 Zależność intensywności luminescencji tlenu od energii lasera wraz z prostymi dopasowania dla wzorca i związków **P18** i **P22**

W przypadku czwartorzędowych soli amoniowych zauważono znaczne skrócenie czasu życia tlenu singletowego i wzrost intensywności emisji w porównaniu ze wzorcem oraz innymi pochodnymi (Rys. 4.6.7).



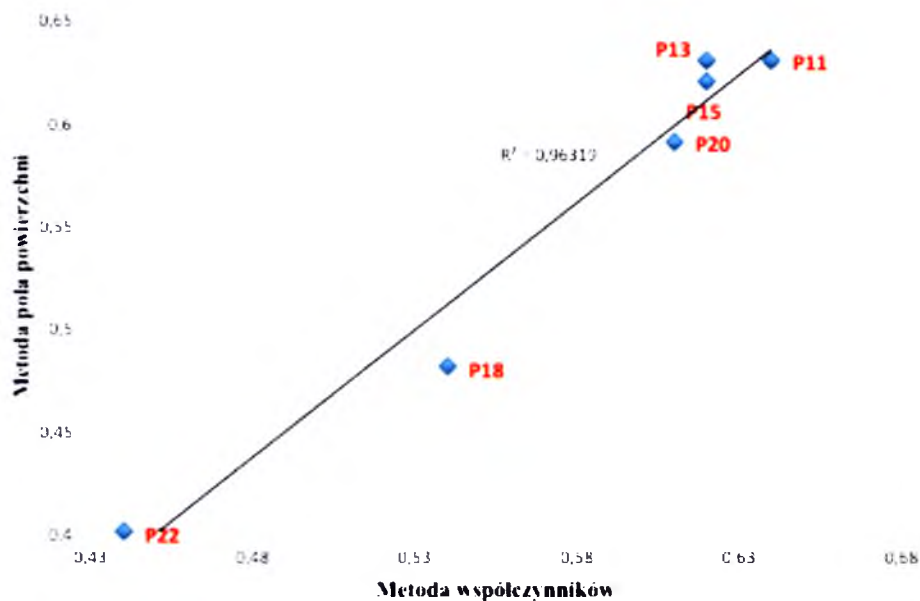
Rys. 4.6.7 Krzywe zaniku luminescencji tlenu singletowego dla wzorca i związku **P19**

Fakt ten sprawia, że nie jest możliwe wyznaczenie dla tych związków kwantowej wydajności tlenu sigletowego metodą stosowaną dotychczas. Z porównania współczynników kierunkowych  $a$  wzorca i próbki okazuje się, że kwantowa wydajność generowania tlenu singletowego jest większa od 1, co nie jest możliwe. W celu określenia badanego parametru

dla czwartorzędowych soli amoniowych porfiryn zastosowano metodę porównania pól powierzchni pod krzywymi zaniku luminescencji tlenu singletowego wzorca i próbki. Kwantową wydajność tlenu singletowego obliczono według równania<sup>138</sup>:

$$\Phi_{\Delta} = \Phi_{\Delta w} \cdot \frac{S}{S_w} \cdot \frac{1 - 10^{-A_w}}{1 - 10^{-A}}$$

gdzie  $\Phi_{\Delta w}$  to kwantowa wydajność tlenu singletowego wzorca,  $S$  i  $S_w$  to pola powierzchni pod krzywymi zaniku emisji odpowiednio próbki i wzorca, a  $A$  i  $A_w$  to absorbanca próbki i wzorca. W celu sprawdzenia metody wykonano również pomiary dla 6 związków, dla których kwantowa wydajność tlenu singletowego wyznaczona była metodą porównywania współczynników kierunkowych. Na rysunku 4.6.8 widać, że istnieje dość duża zgodność pomiędzy obiema metodami, zatem stosowanie metody pola powierzchni pod pikiem może być uzasadnione.



Rys. 4.6.8 Porównanie wyników kwantowej wydajności tlenu singletowego

Związek	Kwantowa wydajność tlenu singletowego $\Phi_{\Delta}$	Związek	Kwantowa wydajność tlenu singletowego $\Phi_{\Delta}$
P1	0,61	P14	0,69
P2	0,60	P15	0,62
P3	0,62	P16	0,61
P4	0,63	P17	0,67
P7	0,64	P18	0,54
P8	0,60	P19	0,75
P9	0,63	P20	0,61
P10	0,65	P21	0,69
P11	0,64	P22	0,44
P12	0,68	P23	0,71
P13	0,62	-	-

Tabela 4.6.1 Wyznaczona kwantowa wydajność tlenu singletowego otrzymanych porfiryn

Związek	Kwantowa wydajność tlenu singletowego $\Phi_{\Delta}$
<b>Ch1</b>	0,57
<b>Ch2</b>	0,54

Tabela 4.6.2 Wyznaczona kwantowa wydajność tlenu singletowego otrzymanych chloryn

W tabelach 4.6.1 i 4.6.2 przedstawiono kwantowe wydajności tlenu singletowego otrzymanych związków. W przypadku metalizowania lub czwartorzędowania związków **P18** i **P22** zaobserwowano ogólny wzrost wartości kwantowej wydajności tlenu singletowego (**P20**, **P21** i **P23**). Uzasadnieniem tego wzrostu może być efekt ciężkiego atomu, który powoduje większe obsadzenie stanów trypletowych cząsteczki, a przez to efektywniejsze przekazywanie energii tlenowi. Ponadto efekt ten tłumaczy skrócenie czasów zaniku luminescencji tlenu.<sup>139</sup> Kwantowa wydajność tlenu singletowego pozostałych związków była na podobnym, dość wysokim poziomie. Sugeruje to, że ani dodatkowe grupy metoksyłowe, ani długie łańcuchy w pochodnych hydroksylowych tetrafenyloporfiryryny nie wpływają specjalnie na proces przekazywania energii z fotouczulacza do cząsteczki tlenu. Kwantowe wydajności generowania tlenu singletowego stosowanych fotouczulaczy wynoszą 0,59 dla Foscanu<sup>140</sup> oraz 0,2 dla Photofrinu.<sup>141</sup> Otrzymane wyniki pozwalają twierdzić, że otrzymane związki ze względu na możliwości generowania tlenu singletowego mogłyby znaleźć zastosowanie jako fotouczulacze w PDT.

#### 4.7 Fotostabilność

Trwałość związków o potencjalnym zastosowaniu jako fotouczulaczy jest bardzo istotną cechą. Ważne jest aby związek nie ulegał rozkładowi w ciemności oraz pod wpływem światła. Dobry fotouczulacz po akcie napromieniowania powinien przejść do elektronowo wzbudzonego stanu, przekazać nadmiar energii sąsiadującym molekułom (np. tlenowi) i powrócić do swojego podstawowego stanu. Może się jednak zdarzyć, że w wyniku takiego cyklu cząsteczka fotouczulacza ulegnie rozkładowi. Proces taki nazywa się fotodegradacją i zachodzi na drodze zróżnicowanych reakcji fotoaddycji, fotocyklizacji, fotoutleniania, fotoredukcji i innych. W wyniku fotodegradacji fotosensybilizator traci swoje właściwości fotouczulające. Na proces ten może wpływać

wiele czynników takich jak rodzaj rozpuszczalnika, pH, rodzaj podstawników w związku, czy stopień jego agregacji.<sup>142-143</sup>

W pracy określono trwałość wszystkich otrzymanych związków w warunkach prowadzenia eksperymentu. Pomiar polegał na porównaniu wartości absorbancji w paśmie Soreta oraz pasmach Q związku przed i po procesie napromieniowania. Moc promieniowania była tak dobrana, by dawka promieniowania jaką otrzymuje związek w jednostce czasu była taka jak w warunkach pomiarów biologicznych w Instytucie Onkologii w Gliwicach. Z przeprowadzonych badań wynika, że w warunkach prowadzenia eksperymentu otrzymane związki są stabilne. Jedynie w przypadku związku **Ch2** zaobserwowano spadek absorbancji, ale nawet po 60 minutach naświetlania wynosiła ona wciąż 90% wyjściowej absorbancji związku.

Badano również stabilność otrzymanych związków w ciemności. W tym celu zmierzono i porównano wartości absorbancji roztworów fotouczulaczy tuż po ich sporządzeniu oraz po 30 dniach. Roztwory przez ten okres trzymane były w lodówce, bez dostępu światła. W przypadku wszystkich związków, zarówno porfiryn jak i chloryn, nie zaobserwowano spadku absorbancji po 30 dniach. Świadczy to o tym, że związki te nie tylko nie ulegały procesom rozkładu, ale również w danych warunkach nie agregowały.

Z przeprowadzonych eksperymentów wynika, że otrzymane związki cechują się dużą trwałością w ciemności oraz w warunkach naświetlania próbki. Właściwości takie są pożądane w przypadku potencjalnych fotouczulaczy, ponieważ sprawiają, że dla uzyskania efektu terapeutycznego wymagane jest podanie mniejszej dawki, a samo przechowywanie leku nie powoduje spadku ich aktywności.



## 5. Podsumowanie i wnioski

W pierwszym etapie prowadzonych badań poza wyjściowymi związkami otrzymano 18 nowych porfiryn oraz chlorynę o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej. Otrzymane związki są pochodnymi tetraaryloporfiryny z przyłączonym jednym wyraźnie hydrofobowym fragmentem alkilowym. Struktura wszystkich otrzymanych związków została potwierdzona za pomocą  $^1\text{H}$  NMR oraz ESI-MS. Dla wszystkich otrzymanych związków wykonano badania pozwalające ocenić ich przydatność jako fotouczulaczy. Za pomocą spektrofotometrii UV-VIS wyznaczono ich molowe współczynniki absorpcji, spektrofluorymetrycznie wyznaczono kwantowe wydajności fluorescencji, natomiast laserowa fotoliza błyskowa pozwoliła na wyznaczenie parametrów takich jak czasy życia stanów trypletowych oraz kwantowe wydajności generowania tlenu singletowego. Ponadto określono lipofilowość oraz fotostabilność otrzymanych związków.

Szesnastowęglowy łańcuch przyłączony do związku ma na celu wspomaganie wbudowywania się związku w liposom lub jego wnikanie w błonę komórki. Wyważone właściwości hydrofobowo-hydrofilowe związku wydają się być kluczowe w przypadku ewentualnych zastosowań medycznych. Wyznaczone w pracy  $\log P$  dla hydroksylowych pochodnych porfiryn pokazują wpływ hydrofobowego fragmentu w cząsteczkach na ich lipofilowość. Znaczny wzrost lipofilowości związków wraz z przyłączeniem do nich długiego, alkilowego łańcucha jest efektem spodziewanym. Wykazano, że typ wiązania przez jakie przyłączony jest fragment hydrofobowy do fragmentu fenyloporfirynowego wpływa na lipofilowość całego związku. Wiedza dotycząca lipofilowości otrzymanych związków może być wykorzystana podczas planowania eksperymentów łączenia ich z nośnikiem lub w czasie badań biologicznych.

Fotostabilność jest parametrem pozwalającym określić trwałość związku. Jest to ważne ze względu na to, że związek w trakcie ekspozycji na promieniowanie może ulegać rozkładowi, co jest niekorzystne z terapeutycznego punktu widzenia, ponieważ wiąże się z koniecznością stosowania większych dawek leku. Poza tym związek znajdujący się w roztworze może ulegać procesom rozkładu lub agregacji nawet bez dostępu światła. Ważne jest zatem żeby związki charakteryzowała duża trwałość i stabilność zarówno w warunkach naświetlania jak i w ciemności. Spośród otrzymanych związków wszystkie posiadały dużą trwałość w warunkach prowadzonych eksperymentów.

Jednym z podstawowych parametrów charakteryzujących porfirynewe fotouczulacze jest molowy współczynnik absorpcji. Porfiryny posiadają bardzo charakterystyczne widmo absorpcyjne w zakresie światła widzialnego, które składa się z intensywnego pasma Soreta występującego przy długości fali około 420 nm oraz czterech pasm Q występujących w zakresie od 500 do 750 nm. W przypadku metalizowanej porfiryny następuje redukcja pasm Q do dwóch. Wszystkie otrzymane związki posiadały widma charakterystyczne dla tego typu związków. W przypadku fotouczulaczy ważne jest by posiadały jak najwyższy molowy współczynnik absorpcji w zakresie tzw. „okna terapeutycznego“, a więc w zakresie promieniowania, w którym nie absorbują barwniki endogenne organizmu. Jest to zakres powyżej 600 nm. Wzrost absorbancji w tym zakresie można uzyskać przeprowadzając odpowiednią porfiryne w chlorynę. Dzięki temu zabiegowi następuje kilkukrotny wzrost intensywności pasma Q występującego przy długości fali około 650 nm, co zostało pokazane na przykładzie otrzymanych w pracy chloryn. W ramach pracy otrzymano czwartorzędowe pochodne amoniowe porfiryn, które posiadają charakterystyczne dla porfiryn widmo absorpcyjne nawet w roztworach wodnych. Rozpuszczalność tych związków w wodzie stwarza nowe możliwości ich badania.

Porfiryny i ich pochodne posiadają charakterystyczne widma fluorescencji. Wyznaczenie kwantowej wydajności tego procesu pozwala ocenić efektywność możliwych przejść interkombinacyjnych. Z punktu widzenia PDT związek powinien posiadać jak najniższą kwantową wydajność fluorescencji, ponieważ niska wartość tego parametru zwiększa prawdopodobieństwo przejść interkombinacyjnych. Kwantowa wydajność fluorescencji otrzymanych w ramach pracy związków jest dość niska i wynosi średnio około 10-20%. Wśród badanych związków można jednak zauważyć, że w przypadku pochodnych metalizowanych lub czwartorzędowanych wartość kwantowej wydajności fluorescencji. Prawdopodobnie spowodowane jest to tzw. efektem ciężkiego atomu. Jeśli w cząsteczce obecny jest ciężki atom (w analizowanych przypadkach metal lub jon jodkowy) w wyniku sprzężenia spin-orbita przejścia interkombinacyjne stają się bardziej prawdopodobne.

Konsekwencją efektywniejszych przejść interkombinacyjnych jest większa wydajność kwantowa stanu trypletowego. W kontekście terapii fotodynamicznej ważne jest by stan ten był jak najefektywniej generowany, ponieważ to z tego stanu następuje transfer energii do cząsteczek sąsiadujących z fotouczulaczem, które odpowiadają za stres oksydacyjny chorych komórek. Ważne jest również by związek w stanie trypletowym

pozostawał jak najdłużej, gdyż zwiększa to prawdopodobieństwo przekazu energii sąsiednim molekułom. W pracy zostały wyznaczone czasy życia stanów trypletowych otrzymanych związków. Wyraźne wydłużenie się czasu życia stanów trypletowych w warunkach zbliżonych do beztlenowych w porównaniu do warunków, w których roztwór fotouczulacza pozostawał w równowadze z otoczeniem, świadczy o tym, że tlen jest efektywnym wygaszczem stanu trypletowego. Wynika z tego, że energia jest przekazywana ze stanu trypletowego fotouczulacza cząsteczkom tlenu, powodując jego wzbudzenie.

Tlen, którego podstawowym stanem jest stan trypletowy może przejść w wyniku absorpcji energii do stanu wzbudzonego, którym jest stan singletowy. Tlen w stanie singletowym posiada właściwości silnie utleniające i jest uważany za czynnik powodujący śmierć komórki w jednym z mechanizmów opisujących terapię fotodynamiczną. Kolejnym parametrem opisującym fotouczulacz jest możliwość generowania tlenu singletowego. Efektywność tego procesu można przedstawić za pomocą kwantowej wydajności tlenu singletowego. Kwantowa wydajność tlenu singletowego została wyznaczona dla otrzymanych związków. Zaobserwowano, że w przypadku pochodnych zmetalizowanych jak i czwartorzędowych tlen singletowy generowany jest efektywniej. Może być to związane również z efektem ciężkiego atomu. W większości przypadków kwantowa wydajność tlenu singletowego otrzymanych związków utrzymuje się na dość wysokim, co najmniej 60%, poziomie.

W ramach niniejszej pracy otrzymano szereg nowych pochodnych tetraaryloporfiryryny o potencjalnym zastosowaniu w terapii fotodynamicznej. Różna budowa otrzymanych związków, a co za tym idzie różne właściwości hydrofobowo-hydrofilowe przy podobnych wydajnościach tlenu singletowego pozwalają zastosować je w różnego rodzaju próbach biologicznych, z różnymi typami nośników leków, jak również bez użycia takowych. W pracy zostały przedstawione metody syntezy badanych fotosensybilizatorów oraz pełna ich charakterystyka fizykochemiczna istotna z punktu widzenia potencjalnego użycia otrzymanych związków jako fotouczulaczy w terapii fotodynamicznej.

## 6. Dorobek naukowy

### 6.1 Spis publikacji

1. Piotr Kuś, **Marcin Rojkiewicz**, Grzegorz Zięba and Peter G. Jones, *2,3-O-Isopropylidene-1-O-p-tolylsulfonylglycerol*, Acta Cryst. (2009). E65, o1191
2. Piotr Kuś, **Marcin Rojkiewicz**, Grzegorz Zięba, Monika Witoszek and Peter G. Jones, *(2,2-Dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)metyl 3-carboxypropanoate*, Acta Cryst. (2009). E65, o1192
3. **Marcin Rojkiewicz**, Wojciech Kozik, Mirosław Czapka, Krystyna Jarzembek, Grzegorz Zięba, Piotr Kuś, Violetta Kozik: *Fotodynamiczna terapia nowotworów*, J. Ecology and Health (Problemy Ekologii), (2010) 4, 196
4. **Marcin Rojkiewicz**, Grzegorz Zięba, Anna Jarczyk, Piotr Kuś, *Lipophilicity of tetraarylporphyrins. Part 1. Tetra-(hydroxyphenyl)porphyrins with long alkyl chain in the molecule*, JPC – 24 (2011) 3; 201 – 205
5. Grzegorz Zięba, **Marcin Rojkiewicz**, Violetta Kozik, Krystyna Jarzembek, Anna Jarczyk, Aleksander Sochanik, Piotr Kuś; *The synthesis of new potential photosensitizers. 1. Mono-carboxylic acid derivatives of tetraphenylporphyrin*; Monatsh Chem (2012) 143:153–159

### 6.2 Spis prezentacji konferencyjnych

1. **M. Rojkiewicz**, G. Zięba, M. Czupryna, K. Jarzembek, V. Łysiak, *Opracowanie i optymalizacja preparatów dla studentów w pracowni syntezy organicznej*, 49. Zjazd PTChem i SITPChem, Gdańsk 2006
2. M. Matyja, **M. Rojkiewicz**, G. Zięba, K. Jarzembek, V. Łysiak, *Badawcze porównanie syntez prowadzonych różnymi technikami laboratoryjnymi – w małej skali, mikroskali i polu mikrofalowym*, 49. Zjazd PTChem i SITPChem, Gdańsk 2006
3. **M. Rojkiewicz**, G. Zięba, P. Kuś, *Tetrafenyloporfiry z jednym alkilokarboksylowym podstawnikiem*, 51. Zjazd PTChem i SITPChem, Opole 2008
4. V. Kozik, K. Jarzembek, W. Kozik, **M. Rojkiewicz**, G. Zięba, P. Kuś, *Poszukiwanie nowych pochodnych tetrafenyloporfiry jako potencjalnych leków fotouczulających w terapii fotodynamicznej*, II Kongres Polskiego Towarzystwa Medycyny Fotodynamicznej i Laserowej, Ustroń 2008

5. A. Szurko, M. Rams, A. Sochanik, F.P. Montforts, P. Kuś, V. Kozik, M. Stefaniak, **M. Rojkiewicz**, G. Zięba, A. Pasewicz, A. Ratuszna, *Photophysical and biological studies of some novel photosensitizers with prospects for use in PDT*, Gliwickie Spotkania Naukowe, Gliwice 2008
6. **M. Rojkiewicz**, G. Zięba, V. Kozik, K. Jarzembek, A. Jarczyk, P. Kuś, *Lipophilicity of new potential photodynamic therapy agents*, THE XXXIII-rd SYMPOSIUM, Katowice-Szczyrk 2010
7. G. Zięba, **M. Rojkiewicz**, K. Jarzembek, V. Kozik, A. Jarczyk, M. Łannik, P. Kuś, *Determination of lipophilicity of tritolylporphyrin derivatives using TLC*, THE XXXIII-rd SYMPOSIUM, Katowice-Szczyrk 2010
8. G. Zięba, **M. Rojkiewicz**, A. Jarczyk, V. Kozik, K. Jarzembek, P. Kuś; *Lipophilicity of carboxyalkylphenyl-tri-tolylporphyrins - the potential photosensitizers*; Gliwickie Spotkania Naukowe; Gliwice 2010
9. **M. Rojkiewicz**, G. Zięba, K. Jarzembek, V. Kozik, A. Jarczyk, P. Kuś; *Lipophilicity of new monoalkyl-tetra-(hydroxyphenyl)porphyrin derivatives*; Gliwickie Spotkania Naukowe; Gliwice 2010
10. G. Zięba, **M. Rojkiewicz**, A. Jarczyk, K. Jarzembek, V. Kozik, P. Kuś, P. Kuś; *Lipophilicity determination of new potential porphyrin - based PDT agents*; II Międzynarodowe Sympozjum Edukacyjne "Społeczeństwo i Zdrowie"; Zakopane 2010
11. G. Zięba, **M. Rojkiewicz**, A. Jarczyk, K. Jarzembek, V. Kozik, P. Kuś; *Investigation of some chemical properties potential PDT agents*; II Międzynarodowe Sympozjum Edukacyjne "Społeczeństwo i Zdrowie"; Zakopane 2010
12. M. Małkiewicz, P. Kozub, **M. Rojkiewicz**, P. Kuś, A. Ratuszna; *Efficiency determination of photosensitizers from the porphyrin family in photodynamic therapy using laser flash photolysis*; Piknik Naukowy, Brenna 2011
13. M. Dulski, M. Małkiewicz, P. Kozub, A. Ratuszna, R. Wrzalik, P. Kuś, **M. Rojkiewicz**; *UV-VIS spectroscopic investigation of pure porphyrine*; Piknik Naukowy, Brenna 2011
14. P. Kozub, M. Małkiewicz, M. Dulski, M. Kulpa, **M. Rojkiewicz**, P. Kuś, A. Ratuszna; *Physicochemical characterization of porphyrins as potential sensitizers for photodynamic therapy (PDT)*; Piknik Naukowy, Brenna 2011
15. P. Kozub, M. Małkiewicz, **M. Rojkiewicz**, P. Kuś, A. Szurko, A. Ratuszna; *Spectroscopy investigations of porphyrins as potential photosensitizers for photodynamic therapy*; International Workshop on "Molecular Pathways in the Response of Tumours to Photodynamic Therapy", Udine 2011

17. M. Małkiewicz, P. Kozub, **M. Rojkiewicz**, P. Kuś, A. Szurko, A. Ratuszna; *Possibilities of destroying cancer cells by porphyrin photosensitizers - performance test of singlet oxygen generation*; International Workshop on "Molecular Pathways in the Response of Tumours to Photodynamic Therapy", Udine 2011
18. P. Kozub, M. Małkiewicz, A. Szurko, **M. Rojkiewicz**, P. Kuś, A. Ratuszna; *Charakterystyka potencjalnych leków pod kątem ich wykorzystania w terapii nowotworowej*; Sympozjum "Biofizyka a Medycyna"; Poznań 2011
19. M. Kempa, P. Kozub, A. Szurko, **M. Rojkiewicz**, P. Kuś, A. Ratuszna; *Influence of the substituents position on physicochemical properties of porphyrin photosensitizers*; Gliwickie Spotkania Naukowe; Gliwice 2011
20. **M. Rojkiewicz**, P. Kuś; *Synthesis and physicochemical parameters of some new tetra(aryl)porphyrin derivatives as potential PDT agents*; Drug Synthesis and Analysis; Brno, Czechy, 2011

## 7. Literatura

- <sup>1</sup> K. S. Suslick, N. A. Rakow, M. E. Kosal, J.H. Chou; *J. Porphyrins Phthalocyanines*; 4; 2000: 407
- <sup>2</sup> D. Monti, S. Nardis, M. Stefanelli, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico; *J. Sensors*; 2009: 1
- <sup>3</sup> R. Babakhania, F. Bahadoran, N. Safari; *J. Porphyrins Phthalocyanines*; 11; 2007: 95
- <sup>4</sup> M. S. Choi, T. Yamazaki, I. Yamazaki, T. Aida; *Angew. Chem. Int. Ed.*; 43; 2004: 150
- <sup>5</sup> J. P. Collman, P. S. Wagenknecht, J. E. Hutchison; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*; 33; 1994: 1537
- <sup>6</sup> K.M. Kadish, K. Smith, R. Guillard; *The Porphyrin Handbook*; Academic Press; New York 2000; Vol. 6
- <sup>7</sup> R. Ackroyd, C. Kelty, N. Brown, M. Reed; *Photochem. Photobiol.*; 74; 2001: 656
- <sup>8</sup> A. Tudaj, H. Podbielska, J. Zychowicz, W. Stręk; *Światło leczy – wprowadzenie do terapii i diagnostyki fotodynamicznej. Diagnostyka i terapia fotodynamiczna*; Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 2004: 1
- <sup>9</sup> T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng; *J. Natl. Cancer Inst.*; 90; 1998: 889
- <sup>10</sup> F. M. Lauro, P. Pretto, L. Covolo, G. Jori, G. Bertoloni; *Photochem. Photobiol. Sci.*; 1; 2002: 468
- <sup>11</sup> H. Shinmori, F. Kodaira, S. Matsugo, S. Kawabata, A. Osuka; *Chemistry Letters*; 34; 2005: 322
- <sup>12</sup> Z. Luksiene; *Medicina*; 39; 2003: 1137
- <sup>13</sup> A. Graczykowa; *Biochemiczne i biofizyczne podstawy fotodynamicznej metody wykrywania i leczenia nowotworów. Fotodynamiczna metoda rozpoznawania i leczenia nowotworów.*; Dom Wydawniczy Bellona; Warszawa; 1999: 21
- <sup>14</sup> E. P. Solomon, L. R. Berg, D. W. Martin; *Organizacja komórki. Biologia*; Multico; Warszawa 2007: 66
- <sup>15</sup> N. Lane; *Świat Nauki*; 2; 2003: 58
- <sup>16</sup> E. S. Nyman, P. H. Hynninen; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*; 73; 2004: 1
- <sup>17</sup> S. Banfi, E. Caruso, S. Caprioli, L. Mazzagatti, G. Canti, R. Ravizza, M. Gariboldi, E. Monti; *Bioorg. Med. Chem.*; 12; 2004: 4853
- <sup>18</sup> R. Bonnett, B. D. Djelal, P. Hamilton, G. Martinez, F. Wierrani; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*; 53; 1999: 136

- <sup>19</sup> F. Menard, V. Sol, C. Ringot, R. Granset, S. Alves, C. Le Morvan, Y. Queneau, N. Ono, P. Krausz; *Bioorg. Med. Chem.*; 17; 2009: 7647
- <sup>20</sup> S. Ballut, A. Makky, B. Loock, J. P. Michel, Ph. Maillard, V. Rosilio; *Chem. Comm.*; 2009: 224
- <sup>21</sup> F. Ricchelli; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*; 29; 1995: 109
- <sup>22</sup> M. Kępczyński, R. P. Pandian, K. M. Smith, B. Ehrenberg; *Photochem. Photobiol.*; 76; 2002: 127
- <sup>23</sup> B. Pegaz, E. Debeve, F. Borle, J. P. Ballini, H. Van der Bergh, Y. N. Kouakou – Konan; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*; 80; 2005: 19
- <sup>24</sup> R. Bonnett; *Porphyrin photosensitizers. Chemical aspects of photodynamic therapy*; Gordon and Breach Science Publishers, London 2000: 149
- <sup>25</sup> S. A. Syrbu, T. A. Ageeva, A. S. Semeikin, O. I. Koifman; *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.*; 56; 2007: 707
- <sup>26</sup> P. Rothmund; *J. Am. Chem. Soc.*; 57; 1935: 2010
- <sup>27</sup> P. Rothmund; *J. Am. Chem. Soc.* 61 1939: 2912
- <sup>28</sup> P. Rothmund, A. R. Menotti; *J. Am. Chem. Soc.*; 63; 1941: 267
- <sup>29</sup> J. H. Priesthoff, C. V. Banks; *J. Am. Chem. Soc.*; 76; 1954: 937
- <sup>30</sup> M. M. Williamson, C. M. Prosser-McCartha, S. Mukundan, Jr., C. L. Hill; *Inorg. Chem.*; 27; 1988: 1061
- <sup>31</sup> A. Petit, A. Loupy, P. Mallard, M. Momenteau; *Synth. Commun.*; 22; 1992: 1137
- <sup>32</sup> S. M. S. Chauhan, B. B. Sahoo, K. A. Srinivas; *Synth. Commun.*; 31; 2001: 33
- <sup>33</sup> G. A. Mirafzal, H. M. Bosse, J. M. Summer; *Tetrahedron Lett.*; 40; 1999: 623
- <sup>34</sup> S. Krol; *J. Org. Chem.*; 24; 1959: 2065
- <sup>35</sup> A. D. Adler, E. R. Longo, W. Shergalis; *J. Am. Chem. Soc.*; 86; 1964: 3145
- <sup>36</sup> A. D. Adler, F. R. Longo, J. D. Finarelli, J. Goldmacher, J. Assour, L. Korsakoff; *J. Org. Chem.*; 32; 1967: 476
- <sup>37</sup> J. B. Kim, J. J. Leonard, F. R. Longo; *J. Am. Chem. Soc.*; 94; 1972: 3986
- <sup>38</sup> J. S. Lindsey, I. C. Schreiman, H. C. Hsu, P. C. Kearney, A. M. Marguerettaz; *J. Org. Chem.*; 52; 1987: 827
- <sup>39</sup> J.S. Lindsey, H.C. Hsu, I.C. Schreiman; *Tetrahedron Lett.*; 27; 1986: 4969
- <sup>40</sup> J. S. Lindsey; R. W. Wagner; *J. Org. Chem.*; 54; 1989: 828
- <sup>41</sup> J. S. Lindsey, K. A. MacCrum, J. S. Tyhonas, Y. Y. Chuang; *J. Org. Chem.*; 59; 1994: 579
- <sup>42</sup> R. W. Wagner, J. S. Lindsey; *Pure Appl. Chem.*; 68; 1996: 1373



- <sup>43</sup> C.-H. Lee, J. S. Lindsey; *Tetrahedron*; 50; 1994: 11427
- <sup>44</sup> B. J. Littler, M. A. Miller, C.-H. Hung, R. W. Wagner, D. F. O'Shea, P. D. Boyle, J. S. Lindsey; *J. Org. Chem.*; 64; 1999: 1391
- <sup>45</sup> P.-A. Faugeras, B. Boëns, P.-H. Elchinger, J. Vergnaud, K. Teste, R. Zerrouki; *Tetrahedron Lett.*; 51; 2010: 1391
- <sup>46</sup> E. N. Durantini, J. J. Silber; *Synth. Commun.*; 29; 1999: 3353
- <sup>47</sup> S.K. Pushpan, S. Venkatraman, V.G. Anand, J. Sankar, D. Parmeswaran, S. Ganesan, T.K. Chandrashekar; *Curr. Med. Chem. - Anti-Cancer Agents*; 2; 2002: 187
- <sup>48</sup> B. W. Henderson, T. J. Dougherty; *Historical perspective. Photodynamic therapy*; Dekker; New York 1992: 1
- <sup>49</sup> T. J. Dougherty, J. E. Kaufman, A. Goldfarb, K. R. Weishaupt, D. Boyle, A. Mittleman; *Cancer. Res.*; 38; 1978: 2628
- <sup>50</sup> T. J. Dougherty, G. B. Grindey, R. Fiel, K. R. Weishaupt, D. Boyle; *J. Natl. Cancer Inst.*; 55; 1975: 115
- <sup>51</sup> T. J. Dougherty, T. S. Mang; *Photochem. Photobiol.*; 46; 1987: 67
- <sup>52</sup> S. Wan, J. A. Parrish, R. R. Anderson, M. Madden; *Photochem. Photobiol.*; 34; 1981: 679
- <sup>53</sup> M. C. Berenbaum, R. Bonnett, P. A. Scourides; *Br. J. Cancer*; 45; 1982: 571
- <sup>54</sup> M. C. Berenbaum, S. L. Akande, R. Bonnett, H. Kaur, S. Ioannou, R. D. White, U. J. Winfield; *Br. J. Cancer*; 54; 1986: 717
- <sup>55</sup> E. Ben-Hur, I. Rosenthal; *Int. J. Radial. Biol.*; 47; 1985: 145
- <sup>56</sup> D. Kessel, C. J. Dutton; *Photochem. Photobiol.*; 40; 1984: 403
- <sup>57</sup> L. K. Gottwald and E. F. Ullman; *Tetrahedron Lett.*; 10; 1969: 3071
- <sup>58</sup> N. Datta-Gupta, T. J. Bardos; *J. Heterocyclic Chem.*; 3; 1966: 495
- <sup>59</sup> R. G. Little, J. A. Anton, P. A. Loach, J. A. Ibers; *J. Heterocycl. Chem.*; 12; 1975: 343
- <sup>60</sup> L. R. Milgrom; *J. Chem. Soc. Perk. Trans. I*; 1983: 2535
- <sup>61</sup> J. Dalton, L. R. Milgrom, S. M. Pemberton; *J. Chem. Soc. Perk. Trans. II*; 1980: 370
- <sup>62</sup> R. Bonnett, R. D. White, U.-J. Winfield, M. C. Berenbaum; *Biochem. J.*; 261; 1989: 277
- <sup>63</sup> H. W. Whitlock, R. Hanauer, M. Y. Oester, B. K Bower; *J. Am. Chem. Soc.*; 91; 1969: 7485
- <sup>64</sup> M. C. Berenbaum, R. Bonnett, E. Cheoretan; *Laser Med. Sci.*; 8; 1993: 235
- <sup>65</sup> R. Bonnett; *Chem. Soc. Rev.*; 24; 1995: 19
- <sup>66</sup> strona Europejskiej Agencji Leków - <http://www.ema.europa.eu>
- <sup>67</sup> K. Müller-Dethlefs, P. Hobza; *Chem. Rev.*; 100; 2000: 143

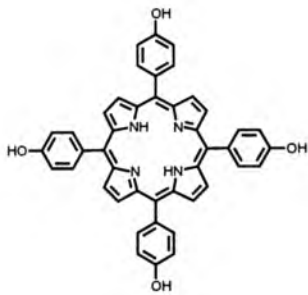
- <sup>68</sup> J.C. Maziere, P. Moliere, R. Santus; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*; 8; 1991: 351
- <sup>69</sup> D. P. Valenzeno; *Photochem. Photobiol.*; 46; 1987: 146
- <sup>70</sup> C. Pidgeon, C. A. Hunt; *Photochem. Photobiol.*; 37; 1983: 491
- <sup>71</sup> A. L. Plant; *Photochem. Photobiol.*; 44; 1986: 453
- <sup>72</sup> F. Ricchelli, D. Stevanin, G. Jori; *Photochem. Photobiol.*; 48; 1988: 13
- <sup>73</sup> D. Wöhrle, M. Shopova, S. Müller, A.D. Milev, V.N. Mantareva, K.K. Krastev; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*; 21; 1993: 155
- <sup>74</sup> M. Korbelik; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*; 12; 1992: 107
- <sup>75</sup> A. M. Richter, S. Yip, E. Waterfield, P. M. Logan, C. E. Slonecker, J. G. Levy; *Photochem. Photobiol.*; 53; 1993: 281
- <sup>76</sup> D. Kessel; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*; 14; 1992: 261
- <sup>77</sup> L. Li, S.-W. Kang, J. Harden, Q. Sun, X. Zhou, L. Dai, A. Jakli, S. Kumar, Q. Li; *Liq. Cryst.*; 35; 2008: 233
- <sup>78</sup> A. Segade, M. Castella, F. López-Calahorra, D. Velasco; *Chem. Mater.*; 17; 2005: 5366
- <sup>79</sup> S. Michaeli, M. Hugerat, H. Levanon, M. Bernitz, A. Natt, R. Neumann; *J. Am. Chem. Soc.*; 114; 1992: 3612
- <sup>80</sup> B. R. Patel, K. S. Suslick; *J. Am. Chem. Soc.*; 120; 1992: 11802
- <sup>81</sup> C. Di Natale, R. Paolesse, A. Macagnano, S. Nardis, E. Martinelli, E. Dalcanale, M. Costa, A. D'Amico; *J. Mater. Chem.*; 14; 2004: 1281
- <sup>82</sup> R. Purrello, S. Gurrieri, R. Lauceri; *Coord. Chem. Rev.*; 190-192; 1999: 683
- <sup>83</sup> C. Di Natale, D. Montib, R. Paolesse; *Mater. Today*; 13; 2010; 46
- <sup>84</sup> I. D. Kostas, A. G. Coutsolelos, G. Charalambidis, A. Skondra; *Tetrahedron Lett.*; 48; 2007: 6688
- <sup>85</sup> Q.-H. Xia, H.-Q. Ge, C.-P. Ye, Z.-M. Liu, K.-X. Su; *Chem. Rev.*; 105; 2005: 1603
- <sup>86</sup> P. Pietikainen; *Tetrahedron Lett.*; 40; 1999: 1001
- <sup>87</sup> B. Meunier; *Chem. Rev.*; 92; 1992: 1411
- <sup>88</sup> E. Rose, M. Quelquejeu, R. P. Pandian, A. Lecas-Nawrocka, A. Vilar, G. Ricart, J. P. Collman, Z. Wang, A. Straumanis; *Polyhedron*; 19; 2000: 581
- <sup>89</sup> J. L. Sessler, E. Karnas, E. Sedenberg; *Porphyrins and expanded porphyrins as receptors. Molecular recognition. Supramolecular chemistry: from molecules to nanomaterials*; John Wiley & Sons; 2012: 1
- <sup>90</sup> V. Kral, O. Rusin, J. Charvatova, P. Anzenbacher Jr., J. Fogl; *Tetrahedron Lett.*; 41; 2000: 10147
- <sup>91</sup> D. Shahbazi-Gahrouei, E. Khodamoradi; *J. Med. Sci.*; 7; 2010: 1015

- <sup>92</sup> Y. Ni; *Curr. Med. Imag. Rev.*; 4; 2008: 96
- <sup>93</sup> D. Baskaran, A. H. E. Müller; *Anionic Vinyl Polymerization. Controlled and Living Polymerizations*; WILEY-VCH Verlag; Weinheim; Germany; 2009: 1
- <sup>94</sup> M. R. Nabid, Z. Zamiraei, R. Sedghi, N. Safari; *React. Func. Polym.*; 69; 2009; 319
- <sup>95</sup> T. Aida, S. Inoue; *Macromol.*; 14; 1981: 1162
- <sup>96</sup> M. Kuroki, T. Aida, S. Inoue; *J. Am. Chem. Soc.*; 109; 1987: 4737
- <sup>97</sup> C. Di Natale, R. Paolesse, A. Macagnano, A. Mantini, P. Mari, A. D'Amico; *Sens. Actuators B*; 68; 2000; 319
- <sup>98</sup> T. Malinski; *Porphyrin Based Electrochemical Sensors. The Porphyrin Handbook*; Academic Press; New York; vol. 6; 2000: 231 - 256
- <sup>99</sup> C. J. Medforth, Z. Wang, K. E. Martin, Y. Song, J. L. Jacobsen, J. A. Shelnutt; *Chem. Commun.*; 47; 2009: 7261
- <sup>100</sup> H. Imahori, S. Fukuzumi; *Adv. Funct. Mater.*; 14; 2004: 525
- <sup>101</sup> T. Hasobe, S. Fukuzumi, P. V. Kamat; *J. Am. Chem. Soc.*; 127; 2005: 11884
- <sup>102</sup> Y. Xu, Z. Liu, X. Zhang, Y. Wang, J. Tian, Y. Huang, Y. Ma, X. Zhang, Y. Chen; *Adv. Mater.*; 21; 2009: 1275
- <sup>103</sup> N.F. Gamaleial, E.D. Shishko1, G.A. Dolinsky, A.B. Shcherbakov, A.V. Usatenko, V.V. Kholin; *Exp. Oncol.*; 32; 2010: 44
- <sup>104</sup> K.M. Kadish, K. Smith, R. Guillard; *Handbook of porphyrin science*; World Scientific; New York 2010; vol. 12
- <sup>105</sup> B. M. Craig, W. O. Lundberg, W. F. Geddes; *J. Am. Oil Chem. Soc.*; 29; 1952: 169
- <sup>106</sup> H. Ndayikengurukiye, S. Jacobs, W. Tachelet, J. Van Der Looy, A. Pollaris, H. J. Geise, M. Claeys, J. M. Kauffmann, S. Janietz; *Tetrahedron*; 53; 1997: 13811
- <sup>107</sup> E. Campaigne, W. M. Budde, G. F. Schaefer; *Org. Synth. Coll. Vol. 4*; 1963: 31
- <sup>108</sup> E. Paszko, C. Ehrhardt, M. O. Senge, D. P. Kelleher, J. V. Reynolds; *Photodiag. Photodyn. Ther.*; 8; 2011: 14
- <sup>109</sup> A. Molinari, M. Colone, A. Calcabrini, A. Stringaro, L. Toccaceli, G. Arancia, S. Mannino, A. Mangiola, G. Maira, C. Bombelli, G. Mancini; *Toxicol. in Vitro*; 21; 2007: 230
- <sup>110</sup> J. Kuntsche, I. Freisleben, F. Steiniger, A. Fahr; *Eur. J. Pharm. Sci.*; 40; 2010: 305
- <sup>111</sup> G. R. Geier III, J. S. Linsey; *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*; 2001: 677
- <sup>112</sup> B. Neises, W. Steglich; *Angew. Chem. Int. Ed.*; 17; 1978: 522
- <sup>113</sup> B. J. Littler, Y. Ciringh, J.S. Lindsey; *J. Org. Chem.*; 64; 1999: 2864
- <sup>114</sup> M. Stefaniak; *JPC*; 20; 2007: 361

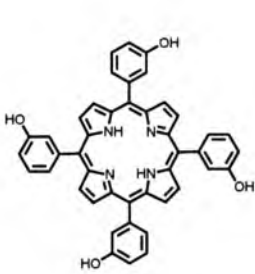
- <sup>115</sup> M. Waksmundzka-Hajnos, D. Matosiuk, A. Petruczynik, U. Kijkowska-Murak; *Acta Chrom.*; 20; 2008: 563
- <sup>116</sup> A. Poła, K. Michalak, A. Burliga, N. Motohashi, M. Kawase; *Eur. J. Pharm. Sci.*; 21; 2004: 421
- <sup>117</sup> J. Habdas, M. Podgórna; *JPC*; 21; 2008: 259
- <sup>118</sup> R. F. Rekker, R. Mannhold; *Calculation of drug lipophilicity*; VCH; Weinheim; Germany; 1992
- <sup>119</sup> R. Mannhold, R. F. Rekker; *Perspect. Drug. Discov.*; 18; 2000: 1
- <sup>120</sup> <http://www.vcclab.org/lab/alogps/start.html>
- <sup>121</sup> M. Medic-Saric, A. Mornar, T. Badovinac-Crnjevic, I. Jasprica; *Croat. Chem. Acta*; 77; 2004: 367
- <sup>122</sup> A. Pyka, M. Babuška, J. Śliwiok; *JPC*; 19; 2006: 432
- <sup>123</sup> A. Niestrój; *JPC*; 20; 2007: 483
- <sup>124</sup> R. Bonar-Law; *J. Org. Chem.*; 61; 1996: 3623
- <sup>125</sup> M. Gouterman; *J. Mol. Spectr.*; 6; 1961: 138
- <sup>126</sup> M. Gouterman; *Optical spectra and electronic structure of porphyrins and related rings. The porphyrins*; Academic Press; New York 1978: 1
- <sup>127</sup> S. Paszyc; *Podstawy fotochemii*; PWN; Warszawa; 1992
- <sup>128</sup> J. R. Lakowicz; *Principles of fluorescence spectroscopy*; Kluwer Academic/Plenum Publishers; New York 1999
- <sup>129</sup> P. Kwiatkowski, A. M. Turek; *Fotochemia i spektroskopia optyczna. Wyznaczanie kwantowej wydajności fluorescencji.*; PWN; Warszawa; 2009: 114
- <sup>130</sup> J. F. Lovell, T. W. B. Liu, J. Chen, G. Zheng; *Chem. Commun.*; 110; 2010: 2839
- <sup>131</sup> A. U. Khan, M. Kasha; *J. Chem. Phys.*; 39; 1963: 2105
- <sup>132</sup> C. Schweitzer, R. Schmidt; *Chem. Rev.*; 103; 2003: 1685
- <sup>133</sup> E. A. Mayeda, A. J. Bard; *J. Am. Chem. Soc.*; 95; 1973: 6223
- <sup>134</sup> P. B. Merkel, D. R. Kearns; *J. Am. Chem. Soc.*; 94; 1972: 1029
- <sup>135</sup> X. Ragas, A. Gallardo, Y. Zhang, W. Massad, C. D. Geddes, S. Nonell; *J. Phys. Chem. C*; 115; 2011: 16275
- <sup>136</sup> M. C. DeRosa, R. J. Crutchley; *Coord. Chem. Rev.*; 233-234; 2002: 351
- <sup>137</sup> F. Wilkinson, W. P. Helman, A. B. Ross; *J. Phys. Chem. Ref. Data*; 22; 1993: 113
- <sup>138</sup> N. N. Kruk, B. M. Dzhagarov, V. A. Galievsky, V. S. Chirvony, P.-Y. Turpin; *J. Photochem. Photobiol. B: Biol.*; 42; 1998: 181
- <sup>139</sup> P. Suppan; *Chemia i światło*; PWN; Warszawa 1997

- <sup>140</sup> H. Mojzisoval, S. Bonneau, P. Maillard, K. Berg, D.Brault; *Photochem. Photobiol. Sci.*; 8; 2009: 778
- <sup>141</sup> V. Santosa, L. Limantara; *Indo. J. Chem.*; 8; 2008: 279
- <sup>142</sup> R. Bonnett, G. Martinez; *Tetrahedron*; 54; 2001: 9513
- <sup>143</sup> Y. Vakrat-Haglili, L. Weiner, V. Brumfeld, A. Brandis, Y. Salomon, B. McIlroy, B. C. Wilson, A. Pawlak, M. Rozanowska, T. Sarna, A. Scherz; *J. Am. Chem. Soc.*; 127; 2005: 6487

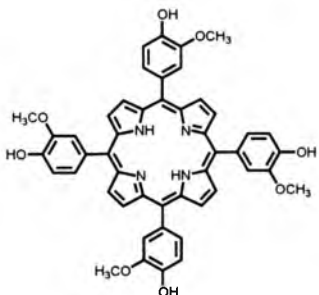
*Wykaz otrzymanych związków*



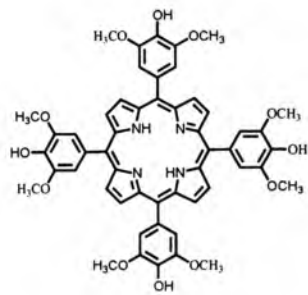
P1



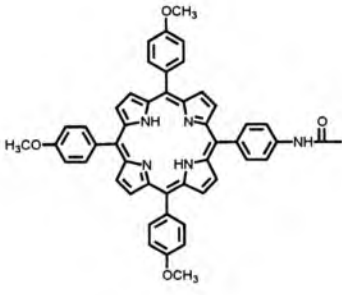
P2



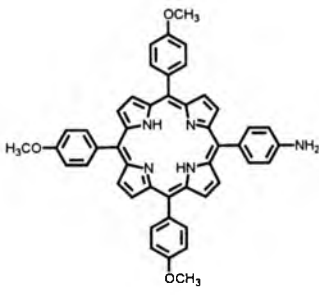
P3



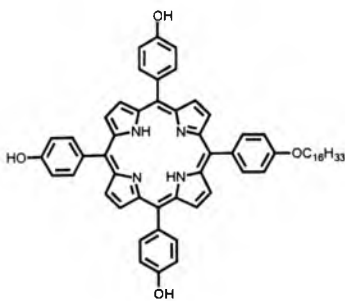
P4



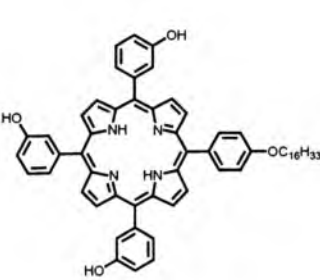
P5



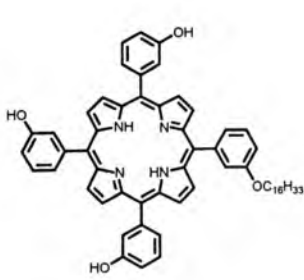
P6



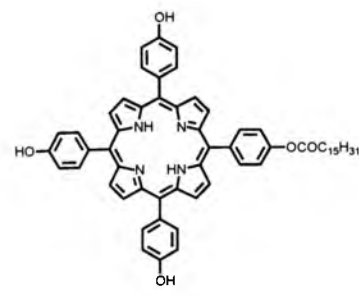
P7



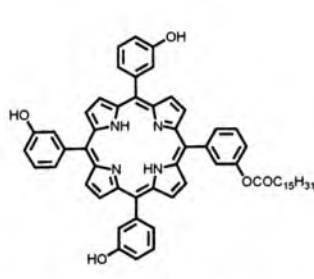
P8



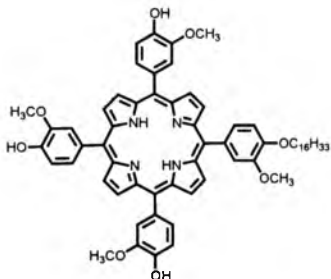
P9



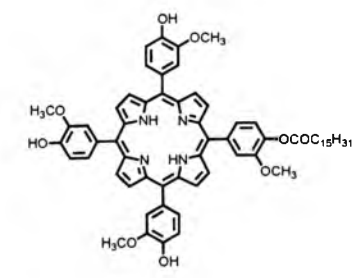
P10



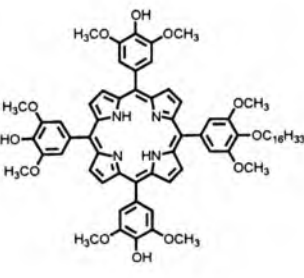
P11



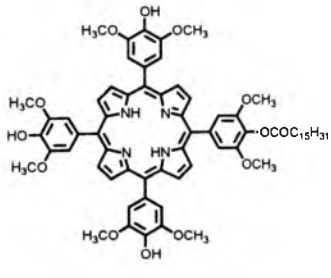
P12



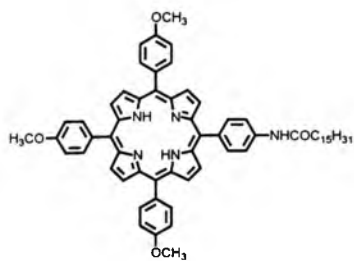
P13



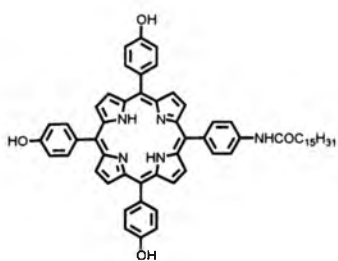
P14



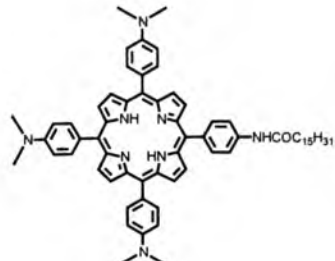
P15



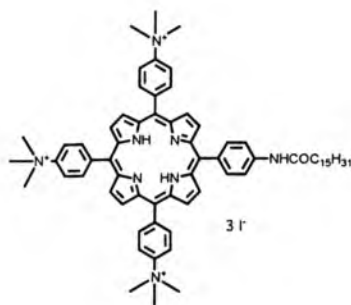
P16



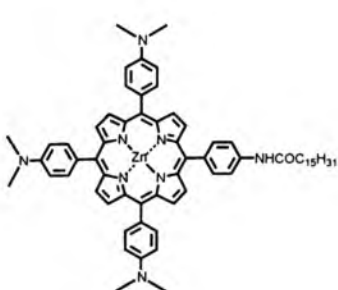
P17



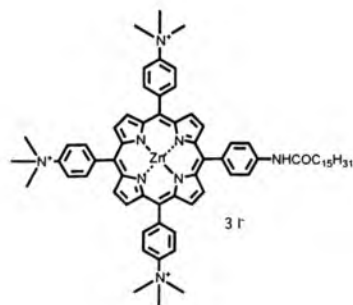
P18



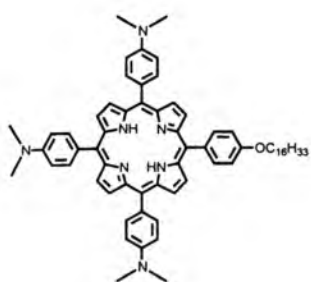
P19



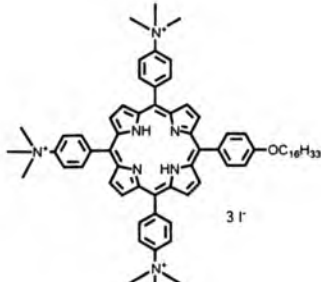
P20



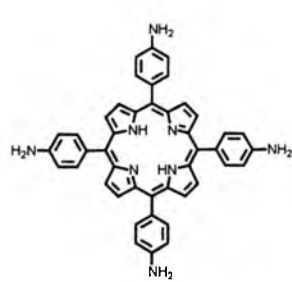
P21



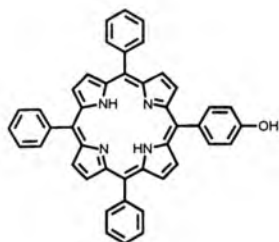
P22



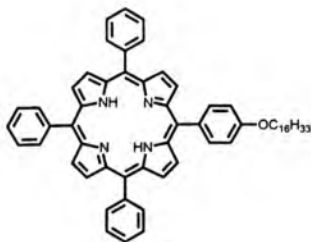
P23



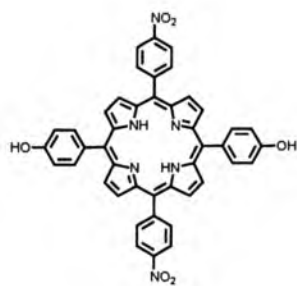
P24



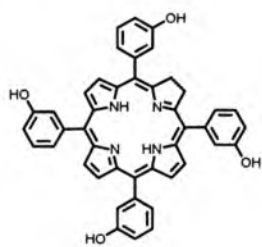
P25



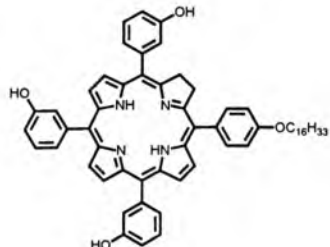
P26



P27



Ch1



Ch2